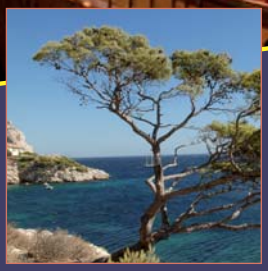
6èmes ASSISES DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE

2-3-4 FÉVRIER - 2012
PALAIS DES CONGRÈS
MARSEILLE

Président du Comité Scientifique :
Nicolas LEVY

Présidente du Comité d'Organisation :
Anne MONCLA

QR-code



RECUEIL DES SESSIONS PLENIÈRES

www.assises-genetique.org

Palais des Congrès - 2 boulevard Rabatau - Parc Chanot - 13008 Marseille

NEUROGENETIQUE PEDIATRIQUE organisé avec La Société Française de Neuropédiatrie
SYMPOSIUM "FRANCIS GIRAUD"
EPILEPSIE ET GÉNÉTIQUE

ASPECTS GENETIQUES ET PHYSIOPATHOLOGIQUES DES ENCEPHALOPATHIES EPILEPTIQUES PRECOCES.

Mathieu Milh, Nathalie Villeneuve, Pierre Cacciagli, Cécile Mignon-Ravix, Anne Lépine, Brigitte Chabrol, Laurent Villard.
INSERM U910, faculté de Médecine, Aix-Marseille Université, Service de neurologie pédiatrique, CINAPSE, Marseille.

Les encéphalopathies épileptiques précoces (EEP) sont définies par un âge de début de l'épilepsie avant trois mois, un dysfonctionnement neurologique permanent et une altération de l'électrogenèse se traduisant par un EEG pathologqiue. La classification internationale reconnait trois syndromes épileptiques débutant ou pouvant débuter précocement : - le syndrome d'Ohtahara, qui est défini par l'association de spasmes épileptiques, de crises focales précoces, avec un tracé intercritique de type suppression-burst où les bursts sont en moyenne plus long que les périodes de silence électriques ; - l'épilepsie myoclonique précoce, caractérisé par l'existence de myocloniesératiques avec un tracé EEG très pauvre, de type suppression-burst avec des périodes de silence plus prolongées que les bouffées d'activité ; - l'épilepsie avec crises partielles migrantes, où les crises partielles prolongées interessent plusieurs régions cérébrales de manière indépendante. Cette classification est cependant peu satisfaisante car la majorité des EEP ne correspondent pas à de tels tableaux cliniques, et car cette classification n'a aucune utilité actuellement dans la démarche étiologique. L'objectif de cet exposé est de donner des informations récentes sur les déterminants génétiques des EEP, dont la plupart ont été mis en évidence très récemment, mais aussi sur les progrès qu'on entrainé ces découvertes sur les aspects physiopathologiques des EEP. On peut ainsi classer les EEP en trois groupes : les EEP en rapport avec une anomalie des propriétés intrinsèques des neurones (canalopathies), les EEP en rapport avec une anomalie de l'organisation morpho-fonctionnelle des réseaux neuronaux (interneuropathies, différenciation neuronale), et les EEP en rapport avec une anomalie de la neurotransmission (synthèse, libération, clearance, cibles).

NEUROGENETIQUE PEDIATRIQUE organisé avec La Société Française de Neuropédiatrie
SYMPOSIUM "FRANCIS GIRAUD"
EPILEPSIE ET GÉNÉTIQUE

GENETIQUE DES EPILEPSIES ET EPILEPSIES GENETIQUES : L'EXEMPLE DES EPILEPSIES SENSIBLES A LA FIEVRE
GENETICS OF EPILEPSY AND GENETIC EPILEPSIES: THE EXAMPLE OF EPILEPSIES TRIGGERED BY FEVER

Christel Depienne
INSERM, CRICM (UMRS_975), AP-HP (Département de Génétique et Cytogénétique, Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique) et UPMC, Institut du cerveau et de la moelle épinière (ICM), Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, 75013, Paris, France.

Les épilepsies sont généralement considérées comme des affections génétiquement complexes, faisant intervenir de multiples gènes en interaction avec des facteurs environnementaux. Toutefois, la reconnaissance et l'étude de formes monogéniques d'épilepsie a permis d'identifier des gènes en cause, de faire des hypothèses sur les mécanismes physiopathologiques et d'établir des modèles animaux. Le premier gène, identifié en 1995 dans des familles avec épilepsie nocturne frontale autosomique dominante, code pour la sous-unité α4 du récepteur nicotinique à l'acétylcholine neuronal. Depuis, des mutations dans plus de 20 gènes, se transmettant de manière autosomique dominante, autosomique récessive ou liée à l'X, ont été identifiées et sont à l'origine de formes familiales d'épilepsies ou de syndromes épileptiques associés à une déficience intellectuelle plus ou moins sévère. La majorité de ces gènes code pour des canaux ioniques ou des récepteurs neuronaux, suggérant que les épilepsies sont essentiellement des « canalopathies ». Chaque sous-type d'épilepsie monogénique reste rare, comparé à la fréquence relativement importante des épilepsies dans la population. Une grande variabilité d'expression est typiquement associée aux mutations d'un même gène voire à d'une même mutation. Ces diverses caractéristiques seront plus spécifiquement illustrées à travers l'exemple de deux gènes impliqués dans les épilepsies sensibles à la fièvre: SCN1A, codant pour un canal sodium dépendant du voltage neuronal, dont les mutations sont responsables de formes familiales d'épilepsie (épilepsie généralisée avec convulsions fébriles) ou d'un syndrome épileptique plus sévère et généralement isolé, le syndrome de Dravet; et PCDH19, le gène codant pour la protocadhérine 19, dont les mutations sont associées à une épilepsie de transmission liée à l'X inhabituelle affectant majoritairement les filles.

NEUROGENETIQUE PEDIATRIQUE organisé avec La Société Française de Neuropédiatrie
SYMPOSIUM "FRANCIS GIRAUD"
EPILEPSIE ET GÉNÉTIQUE

APPROCHE PHARMACOLOGIQUE DES EPILEPSIES RARES D'ORIGINE GENETIQUE

Catherine CHIRON, Rima NABBOUT
UMR 663 (Inserm/Université Paris Descartes) et Centre de Référence Epilepsies Rares, Hôpital Necker, Paris

Une cause génétique est identifiée dans de plus en plus d'Epilepsies rares de l'enfant, permettant de développer des modèles animaux spécifiques et, idéalement, de nouveaux médicaments anti-épileptiques (MAE) ciblés. Les exemples suivants illustrent, à des degrés divers, l'implication de la génétique dans le traitement de ces épilepsies.

1. Dans le syndrome de De Vivo, l'épilepsie peut se traduire principalement par des absences ou des myoclonies pharmacorésistantes. C'est la découverte de la mutation du gène GLUT1 qui code pour le transporteur du glucose (sang – liquide cephalo rachidien) qui a permis d'envisager le traitement de cette épilepsie par le régime cétogène.

2. Dans le syndrome de Dravet, une épilepsie sévère du nourrisson très résistante aux MAE usuels, nous avons d'abord fait la preuve de l'efficacité d'un nouveau MAE (le stiripentol) et montré son mécanisme d'action gabaergique. C'est ensuite qu'ont été découverte la mutation du gène SCN1A (canal sodique) et développé un modèle murin de Dravet : Ces souris mutées ont une diminution de l'inhibition GABA. Néanmoins, si cette anomalie explique bien les crises et est concordante avec l'action du stiripentol, elle ne l'est pas avec le fait qu'un autre MAE gabaergique, le vigabatrin, aggrave au contraire les crises de ces jeunes patients.

3. Dans les spasmes infantiles (une épilepsie sévère du nourrisson également très pharmaco-résistante et usuellement traitée par de fortes doses de corticoïdes), nous avons fait la preuve de l'efficacité du vigabatrin, en particulier dans la Sclérose tubéreuse de Bourneville (STB), mais la raison de cet effet spécifique n'est pas encore connue. Puis les gènes TSC1 et TSC2 ont été identifiés et plusieurs modèles animaux de STB développés récemment, laissant entrevoir de nouvelles cibles de MAE. Parmi ces cibles, la « voie mTOR », physiologiquement régulée par TSC1 et TSC2, est une des plus prometteuses pour la STB : la rapamycine (un inhibiteur de mTOR) permet d'y réduire les tumeurs bénignes (angiomyolipomes rénaux et astrocytomes à cellules géantes intracérébraux). Elle a aussi un effet antiépileptique sur le modèle de souris et un essai thérapeutique va être bientôt débuté chez l'humain.

Même s'il s'agit encore de données préliminaires et touchant un petit nombre de patients, la génétique permet donc de faire progresser significativement le traitement des Epilepsies sévères de l'enfant.

NEUROGENETIQUE PEDIATRIQUE organisé avec La Société Française de Neuropédiatrie
SYMPOSIUM "FRANCIS GIRAUD"
PATHOLOGIE MITOCHONDRIALE

ASPECTS GENETIQUES
Véronique Paquis, Nice

Texte non parvenu

ASPECTS CLINICO-RADIOLOGIQUES
Isabelle Desguerre, Nathalie Bodaert, Paris

Texte non parvenu

ASPECTS THERAPEUTIQUES
Arnold Munnich, Paris

Texte non parvenu

PLÉNIÈRE (EXPLORATION DU GÉNOME HUMAIN : OUTILS ET RETOMBÉES)

VARIABILITE DU GENOME ET HISTOIRE NATURELLE DES MALADIES

Richard Redon

Depuis la publication du premier assemblage du génome humain, l'extraordinaire développement des outils de biologie moléculaire a permis à la communauté scientifique de réaliser l'étendue de la variabilité génétique interindividuelle, d'étudier la prédisposition génétique aux maladies et d'aborder l'histoire et l'évolution de nos populations. Cependant, peu d'outils épidémiologiques permettant une analyse fine de l'hétérogénéité de nos populations vis à vis des risques de maladie ont été développés jusqu'ici. De nombreuses investigations génétiques se sont concentrées sur l'analyse de grandes cohortes, issues de populations génétiquement hétérogènes. L'application des études d'association (ou GWAS) - suivant l'hypothèse « *common variant / common disease* » - a permis d'identifier des marqueurs de risque ayant généralement un effet faible, mais rarement de véritables prédispositions génétiques.

A côté de l'hétérogénéité génétique des grandes cohortes, il est probable qu'il existe aussi une grande hétérogénéité physiopathologique des maladies complexes étudiées dans ces cohortes. Si l'on se réfère aux maladies rares, un phénotype observé commun peut être la conséquence de mutations morbides de gènes différents (exemple : plus de 15 gènes pour la cardiomyopathie hypertrophique). Dans bien des cas, même une analyse fine des relations phénotype-génotype ne permet pas d'identifier cliniquement le gène en cause, le phénotype final n'étant que le résultat d'un remodelage complexe suite aux défauts génétiques initiaux.

Un très grand nombre de variations génétiques différentes pourrait donc être en cause pour les maladies dont la fréquence est élevée et pour lesquelles un risque familial a été mis en évidence. Ces variations seraient rares car diluées par la forte hétérogénéité génétique des grandes cohortes, mais seraient retrouvées à une fréquence plus élevée dans certaines sous-populations où elles conféreraient un risque élevé de maladie. Selon cette hypothèse émergente, il devient essentiel d'entreprendre une analyse fine de groupes de malades démographiquement homogènes, pour identifier ces facteurs de risque à effet fort mais difficilement détectables dans une approche à grande échelle. En parallèle, il est capital de mettre en place les ressources biologiques permettant de mieux comprendre la structure génétique de nos populations régionales, desquelles sont issus les patients recrutés pour investigations moléculaires. Etudier ces populations et comprendre l'effet de leur histoire sur la structure fine de leurs chromosomes pourrait bien être la clef pour mettre en évidence les variations génétiques prédisposant aux maladies observées chez les patients.

PLÉNIÈRE (EXPLORATION DU GÉNOME HUMAIN : OUTILS ET RETOMBÉES)

IMPACT DE LA VARIABILITE DU GENOME EN PATHOLOGIE

Jean-Louis Mandel
IGBMC (INSERM/CNRS/Université de Strasbourg), CHU Strasbourg et College de France

L'explosion inouïe des technologies d'analyse du génome humain a permis le développement exponentiel des stratégies d'investigation des bases génétiques des pathologies mendeliennes (maladies rares) ou multifactorielles (maladies communes): GWAS, analyse des CNVs, et enfin séquençage d'exome et même séquençage génomique complet dans un nombre très rapidement croissant de patients et familles avec des pathologies très diverses. Si ceci a apporté des données très importantes sur les mécanismes génétiques de ces pathologies, de nouvelles questions sont apparues, qui concernent notamment l'application en diagnostic et conseil génétique, (maladies rares) ou médecine prédictive ou personnalisée (maladies communes). Pour les maladies communes, c'est le problème très discuté de la "missing heritability", et du rôle potentiel de variants rares qui obère dans beaucoup de cas les espoirs de médecine prédictive ou personnalisée. Dans certains cas (autisme, et dans une certaine mesure schizophrénie), la distinction entre maladie rares et communes devient brouillée, ces maladies communes pouvant résulter en partie de nombreuses maladies très rares et très hétérogènes, avec un rôle majeur de mutations de novo. La profusion de données pour un patient pose le problème de l'interprétation (variant pathogène complètement ou incomplètement pénétrant, facteur de prédisposition à OR faible ou moyen, pas d'effet?). Dans certains cas, des variants faux sens peuvent avoir des effets cliniques totalement opposés, difficiles à prédire (exemple PCSK9). La distinction entre pathologie monogénique/multifactorielle est aussi brouillée par les indications, dans certaines pathologies, de mécanismes digéniques/double hit de CNVs.

D'autre part, il est de plus en plus difficile, pour ces pathologies apparemment mendéliennes très hétérogènes (retard mental, autisme en premier lieu) d'avoir des données fiables sur l'histoire naturelle de la maladie liée à un gène donné ou à des CNV très rares. Alors que l'essor initial du séquençage avait beaucoup réduit en conseil génétique les cas où on ne pouvait que donner des risques empiriques basées souvent sur des données incertaines, on risque de retrouver dans le futur, de nombreux cas d'interprétation difficile. Mais d'autre part, ces techniques puissantes vont permettre enfin les applications du diagnostic moléculaire pour des pathologies très hétérogènes (rétinites pigmentaires, retard mental, surdité congénitale ou précoce...)

PLÉNIÈRE (EXPLORATION DU GÉNOME HUMAIN : OUTILS ET RETOMBÉES)

HIGH RESOLUTION CGH AND GENOMIC VARIABILITY: UNDERSTANDING MOLECULAR MECHANISMS INVOLVED IN EXONIC COPY-NUMBER CHANGES IN THE DMD GENE USING CUSTOM OLIGONUCLEOTIDE CGH ARRAYS

Isabelle Marey, Aurélie Vasson, Lucie Orhant, Virginie Commere, Nathalie Deburgrave, Yoann Saillour, Isabelle Atlan, Rabah Ben Yaou, France Leturcq, Mireille Cossée, Jamel Chelly
APHP, Laboratoire de biochimie et génétique moléculaire, Bâtiment Cassini, GH Cochin, 123 Bd de Port-Royal, 75014 PARIS
Institut Cochin, Université Paris Descartes, INSERM U567, CNRS UMR 8104, Paris, France

The Comparative Genomic Hybridization (CGH) technology, coupled with the development of microarrays, is currently widely used to explore large-size genomic rearrangements. Over the last few years, our laboratory and others developed targeted oligonucleotide probes on microarrays that allowed to explore CNVs at the scale of exons in specific genes, and custom oligonucleotide CGH-array emerged as a powerful tool for the detection of exonic copy-number changes with extremely high resolution, and flexibility. In our laboratory of molecular genetic diagnosis at Cochin Hospital, we developed a custom targeted oligonucleotide-based CGH array containing exons that span 26 genes involved in various heterogenous groups of genetic disorders (limb girdle muscle dystrophies and dystrophinopathies, mental retardation, MCD,…) in order to detect deletions and duplications in a diagnostic setting.

In addition to diagnostic applications, we also took advantage of the high resolution of custom designed CGH-array to investigate intronic breakpoints of DMD deletions with the aim of further understanding molecular mechanism favoring the occurrence of deletions in dystrophin gene. We analyzed by oligonucleotide CGH-array a total of 57 patients with deletions within exons 45 to 55 region known as a deletion hotspot. We also studied the exact intronic breakpoints of 21 patients to further validate accuracy of CGH approach and identify structural instabilities which can lead to double strand break (DSB). Concomitantly, we hypothesized that intronic deletion breakpoints boundaries could modulate disease progression and looked if there was any phenotype/genotype correlation. Interestingly, mainly rearrangements with variable breakpoints positions were identified and diverse potential molecular mechanisms underlying DMD rearrangement were pointed out and predicted. In addition to deletions resulting from recombination between repeated sequences, suspected molecular mechanisms include non-allelic homologous recombination (NHAR) and non-homologous end joining (NHEJ) mechanism, as well as microhomology-mediated break-induced replication (MMBIR). Influence of the diversity of intronic breakpoints on the modulation of BMD phenotypes will also be discussed during the session.

PLÉNIÈRE (EXPLORATION DU GÉNOME HUMAIN : OUTILS ET RETOMBÉES)

EXOME ET MALADIES COMPLEXES

Philippe Froguel

Texte non parvenu

PLÉNIÈRE (EXPLORATION DU GÉNOME HUMAIN : OUTILS ET RETOMBÉES)

APPROCHE COMBINEE PAR RNA-SEQ ET MICROARRAY POUR LA CARTE D'IDENTITE DES TUMEURS

Pierron, Gaëlle, Tirode, Franck, Lucchesi, Carlo, Reynaud, Stéphanie, Ballet, Stelly, Cohen-Gogo, Sarah, Perrin, Virginie, Coindre, Jean-Michel, Delattre, Olivier
Unité 830 INSERM/Institut Curie, Paris

Les sarcomes constituent un groupe de tumeurs très hétérogène en particulier dans leur forme indifférenciée ou à petites cellules rondes. Ces tumeurs sont fréquemment caractérisées par des translocations chromosomiques aboutissant à des gènes de fusion dont le rôle oncogène a souvent été clairement documenté. En utilisant la technique du RNA-Seq combinée aux approches par CGH et profils d'expression, nous identifions un nouveau groupe homogène d'un point de vue génétique, au sein des sarcomes de l'enfant et de l'adulte jeune. Les applications en terme diagnostique, en terme d'une meilleure compréhension des mécanismes du développement tumoral et en terme thérapeutique seront discutées.

PLÉNIÈRE (EPIGENETIQUE)

EPIGENETIQUE ET EMPREINTE PARENTALE
Déborah Bourc'his

Texte non parvenu

PLÉNIÈRE (EPIGENETIQUE)

MODIFICATIONS EPIGENETIQUES ET CANCER
EPIGENETIC CHALLENGES IN CHROMATIN INHERITANCE DURING THE CELL CYCLE

Geneviève Almouzni
Laboratory of Nuclear Dynamics and Genome Plasticity, UMR 218 CNRS/Institut Curie, Research Center, 26 rue d'Ulm, 75248 Paris cedex 05, France

Studies concerning the mechanism of DNA replication have advanced our understanding of genetic transmission through multiple cell cycles. Recent work has shed light on possible means to ensure the stable transmission of information beyond just DNA and the concept of epigenetic inheritance has emerged. Considering chromatin-based information, key candidates have arisen as epigenetic marks including DNA and histone modifications, histone variants, non-histone chromatin proteins, nuclear RNA as well as higher-order chromatin organization. Thus, understanding the dynamics and stability of these marks following disruptive events during replication and repair and throughout the cell cycle becomes of critical importance for the maintenance of any given chromatin state. We will present our most recent work on H3 variant deposition and their importance during vertebrate development opening up issues relevant to cancer biology.

1. Probst A.V., Dunleavy E. & Almouzni G. (2009) Epigenetic inheritance during the cell cycle. *Nature Rev. Mol. Cell. Biol.,* 10, 192-206.
2. Dunleavy E.M. et al. (2009) HJURP, a key CENP-A-partner for maintenance and deposition of CENP-A at centromeres at late telophase/G1. *Cell*, 137, 485-497.
3. Probst A.V. et al. (2010) A strand-specific burst in transcription of pericentric satellites is required for chromocenter formation and early mouse development. *Dev. Cell*, 19, 625-638.
4. Maison C. et al. (2011) SUMOylation promotes *de novo* targeting of HP1α to pericentric heterochromatin. *Nature Genet.*, 43, 220-227.
5. Cook A.J.L et al. (2011) A specific function for the histone chaperone NASP to fine-tune a reservoir of soluble H3-H4 in the histone supply chain. *Mol. Cell*, 44, 918-927.
6. Ray-Gallet D. et al. (2011) Dynamics of histone H3 deposition *in vivo* reveal a nucleosome gap-filling mechanism for H3.3 to maintain chromatin integrity. *Mol. Cell*, 44, 928-941.

PLÉNIÈRE (EPIGENETIQUE)

MODIFICATIONS EPIGENETIQUES ET CANCER
ANOMALIES EPIGENETIQUES DE LA CROISSANCE FŒTALE : MODELE EN MIROIR CLINIQUE ET MOLECULAIRE DES SYNDROMES DE BECKWITH WIEDEMANN ET DE SIVER RUSSELL

Irène Netchine, Sylvie Rossignol, Salah Azzi, Fréderic Brioude, Virginie Steunou, Nathalie Thibaud, Cristina Das Neves, Annick Blaise, Christine Gicquel &Yves Le Bouc.
Hôpital Armand Trousseau, APHP, Université Pierre et Marie Curie (UPMC), INSERM U 938, Paris, France.

La croissance fœtale est un mécanisme complexe qui implique de nombreux facteurs génétiques, épigénétiques et environnementaux. L'empreinte parentale est un mécanisme épigénétique régulant l'expression d'un petit nombre de gènes. La méthylation de l'un des allèles parentaux est l'une des marques épigénétiques qui restreint l'expression à un seul allèle. L'empreinte parentale est établie dans les gamètes en fonction du sexe de l'individu. Les pertes d'empreinte sont impliquées dans différents syndromes entraînant des anomalies de la croissance pouvant débuter dès la vie intra-utérine. La région 11p15 chez l'homme est l'une des régions soumises à empreinte jouant un rôle prépondérant dans le développement fœtal. Elle est organisée en deux domaines qui sont sous le contrôle de deux centres d'empreinte indépendants, ICR1 (domaine télomérique méthylé sur l'allèle paternel, régule le cluster *IGF2/H19*) et ICR2 (domaine centromérique méthylé sur l'allèle maternel, régule le cluster *CDKN1C/KCNQ1*). Les anomalies d'empreinte de cette région sont en cause dans les syndromes de Silver Russell [SRS ; retard de croissance à début intra-utérin et troubles métaboliques] et Beckwith Wiedemann [SBW ; croissance excessive associée à un risque tumoral élevé] qui sont opposés cliniquement et sur le plan moléculaire. En effet, une perte de méthylation d'ICR1 est identifiée dans plus de 50% des cas SRS, alors que le gain de méthylation de cette région est impliquée dans environ 10% des cas de SWB et est associé à un risque de néphroblastome élevé d'environ 30%. A l'inverse une perte de méthylation d'ICR2 est identifiée dans 60% des cas de SWB et s'associe à un risque tumoral très faible. Nous avons montré que dans 25% des cas de SWB avec perte de méthylation d'ICR2 et dans 10 % des cas de SRS avec perte de methylation d'ICR1, l'anomalie de méthylation intéressait au moins un deuxième locus soumis à empreinte, questionnant sur l'implication possible d'un facteur trans intervenant dans le maintien des marques d'empreinte au cours du développement précoce. Par ailleurs, les patients nés après assistance médicale à la procréation sont surreprésentés parmi les patients SRS ayant une perte de methylation d'ICR1 comme cela avait déjà été montré pour les patients SWB avec perte de méthylation d'ICR2 de la région 11p15 soulignant le rôle probable de l'environnement dans la survenue d'une partie au moins de ces anomalies d'empreinte. Plus récemment, l'identification d'anomalies génétiques cryptiques dans les centres d'empreinte montre la nécessité d'une étude plus systématique de ces régions génomiques étendues, grâce à l'utilisation de séquençage à haut débit, afin de préciser le conseil génétique. Par ailleurs, nous avons développé une méthode de PCR quantitative rapide pour mesurer l'index de méthylation de régions soumises à empreinte, rendant techniquement possible le développement d'un diagnostic anténatal sur une petite quantité de liquide amniotique. Cependant, un tel diagnostic sera toujours à pondérer, en fonction du caractère en mosaïque de ces anomalies et soulèvera des questions éthiques importantes.

PLÉNIÈRE (EPIGENETIQUE)

EPIGENETIQUE ET REPRODUCTION

Jean-Paul Renard

PLÉNIÈRE (THÉRAPEUTIQUES INNOVANTES ET MALADIES GÉNÉTIQUES RARES)

GENE THERAPY STRATEGIES FOR NEURODEGENERATIVE DISEASES : FROM GENETIC LEUKODYSTROPHIES TO ALZHEIMER DISEASE

Nathalie Cartier
INSERM U7MR745

We developed gene therapy clinical protocols for genetic leukodystrophies, severe demyelinating diseases of the central nervous system.

In X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD), cerebral demyelination can be stopped or reversed by allogeneic HSC transplantation due to the progressive turn-over of brain macrophages (microglia) derived from bone-marrow cells. Based on our preclinical work in vitro ad in vivo in mouse, a gene therapy protocol based on the reinfusion of autologous HSC corrected with a lentiviral vector was evaluated in 4 children with no compatible donor for allogeneic transplantation. Stable correction of peripheral leukocytes was demonstrated. In the two first treated patients with the longest follow-up, HSC gene therapy resulted in neurological effects comparable to allogeneic HSC transplantation, with complete stabilization of the demyelinating lesions up to up to 54 months. Integration of the vector was polyclonal as suggested by extensive integration profil analysis and high throughput sequencing of integration sites. Long-term results and perspectives will be discussed.

Metachromatic leukodystrophy, is characterized by a deficiency in arylsulfatase A (ARSA) enzyme and sulfatide accumulation. Given the rapid neurodegeneration and the delayed effect of hematopioetic stem cell transplantation, direct brain delivery of ARSA enzyme through gene therapy vector was evaluated as the most suitable therapeutic approach to stop disease progression. Intracerebral delivery of AAVrh10-ARSA vector results in a rapid and complete neuropathological correction in MLD deficient mice. An efficacy and toxicology study were performed in non-human primates and clinical application for patients with late infantile rapidly progressive forms of MLD is currently submitted to the AFFSSAPS.

Using the same gene transfer technology, we identified a new therapeutic target for Alzheimer disease (AD. The development of late onset Alzheimer disease (AD) is closely connected with cholesterol metabolism. Cholesterol increases the production of amyloid deposits (Ab) , a hallmark of AD pathology and is abnormally retained in AD neurons. Excess cholesterol cannot be excreted. To cross the blood-brain barrier it must be transformed in 24S-hydroxy-cholesterol, generated by cholesterol-24-hydroxylase encoded by the CYP46A1 gene. We demonstrated that increasing brain CYP46A1 gene expression through AAV-mediated gene transfer markedly reduces amyloid deposits and improves spatial memory defects in APP23 mouse model before and after the onset of amyloid deposits. These data demonstrate that selective overexpression of CYP46A1 in the brain through viral vector delivery of CYP46A1 could find therapeutic applications in Alzheimer disease, particularly in severe early-onset genetic forms. In a therapeutic perspective we currently evaluate the consequence of CYP46A1 overexpression on the Tau pathology that constitutes the second hallmark of AD pathology.

PLÉNIÈRE (THÉRAPEUTIQUES INNOVANTES ET MALADIES GÉNÉTIQUES RARES)

THERAPIE GENIQUE BILAN ET PERSPECTIVES

Philippe Moullier

PLÉNIÈRE (THÉRAPEUTIQUES INNOVANTES ET MALADIES GÉNÉTIQUES RARES)

DEVELOPMENT OF EXON SKIPPING THERAPY FOR DMD, HD AND OTHER 'COMMON RARE' DISEASES

Gertjan van Ommen, Willem Hoogaars, Maaike van Putten, Dwi Kemaladewi, Peter 't Hoen, Johan den Dunnen, Annemieke Aartsma-Rus
Department of Human Genetics, Leiden University Medical Center, Leiden, the Netherlands

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is caused by mutations in the *DMD* gene that disrupt dystrophin function, a protein that is essential to maintain muscle fiber stability during contraction. The most promising therapeutic approach is antisense-mediated exon skipping, aiming at reframing the disrupted transcript to allow production of an internally deleted dystrophin protein with partial functionality. This approach is currently tested in phase 3 clinical trials by Prosensa/GSK for the skipping of exon 51 (applicable to 13% of patients). For the ultimate, broadly applicable therapy still many unknowns and hurdles require extensive study and, hence, close collaboration between fundamental, translational and clinical researchers and patients. An example is the issue on how much dystrophin is needed for functional improvement or to prevent muscle damage. We generated a mouse model to study the effect of small amounts of dystrophin on normalizing muscle function and survival. Furthermore, therapeutic monitoring of patients in clinical trials would be greatly facilitated by serum biomarkers that correlate with disease severity and dystrophin levels. We have identified several candidate markers. Finally, we are developing supporting exon skipping to improve myogenesis and reduce fibrosis, as dystrophin exon skipping is reliant on existing muscle tissue. We aim is to to induce partial knockdown and TFG-beta receptors ALK4 and ALK5, simultaneously increasing muscle growth and reducing fibrosis. The succes of these approaches has led us to design similar exon skipping-based approaches for other 'common rare diseases' like Huntington's Disease and CADASIL. The examples underline that a close collaboration between fundamental, translational and clinical researchers is necessary to accelerate preclinical research towards the translational stage.

PLÉNIÈRE (THÉRAPEUTIQUES INNOVANTES ET MALADIES GÉNÉTIQUES RARES)

CELLULES SOUCHES PLURIPOTENTES, DES OUTILS THERAPEUTIQUES VERSATILES POUR DES PATHOLOGIES MONOGENIQUES

Marc Peschanski
INSERM/UEVE U861, I-STEM, AFM Evry

Une étude préliminaire que nous avons publiée en 2000 (*Bachoud-Lévi et al., The Lancet 2000*) avait montré des résultats prometteurs suite à l'implantation intra-striatale de précurseurs neuraux et de neuroblastes striataux chez des patients présentant une maladie de Huntington. Parmi les cinq patients greffés, quatre avaient démontré une amélioration clinique claire, dans les fonctions cognitives et motrices, bien corrélée avec la présence de sites de dépôts de cellules visibles en IRM, dans lesquels une tomographie par émission de positons après administration de fluoro-désoxyglucose démontrait une augmentation significative de l'activité métabolique, ainsi que dans des secteurs corticaux frontaux reliés au striatum (*Gaura V et al.., Brain 2004*). Les améliorations ont duré plusieurs années chez trois des patients mais un déclin secondaire s'est enclenché trois à six ans après la greffe (*Bachoud-Lévi et al., Lancet Neurol 2006*). Un consortium clinique (le réseau MIG-HD) a été alors organisé pour élargir les essais à 50 patients.

Les problèmes logistiques posés par les greffes issues de donneurs fœtaux sont toutefois un obstacle majeur qui s'oppose à l'extension de la technique. Nous avons besoin de cellules qui peuvent être produites à volonté pour servir tous les neurochirurgiens impliqués. Les cellules souches embryonnaires humaines peuvent répondre à ce défi. Nous avons donc entrepris de produire en laboratoire les neurones striataux nécessaires (*Aubry et al., PNAS 2008*), et nous avons entrepris de les conduire jusqu'à l'essai clinique.

En parallèle, les cellules souches humaines nous permettent d'aborder une autre piste au potentiel thérapeutique pour les maladies monogéniques, la modélisation des défauts moléculaires associés à l'expression du gène muté. Exprimant spontanément le gène causal, des cellules souches dérivées de malades, notamment d'embryons caractérisés au décours d'un diagnostic pré-implantatoire, représentent en effet un outil privilégié pour explorer tant les mécanismes de ces maladies, par les moyens de la génomique fonctionnelle, que leurs traitements par les techniques de criblage à haut débit de chimiothèques. Nos résultats dans la pathologie neurologique associée à la myotonie dystrophique de Steinert valident cette approche (*Marteyn et al. Cell Stem Cell 2011*) que nous étendons aujourd'hui rapidement à d'autres maladies grâce aux lignées cellulaires issues des embryons du DPI et aux lignées iPS de cellules induites à la pluripotence.

6èmes ASSISES DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE

2-3-4 FÉVRIER - 2012
PALAIS DES CONGRÈS
MARSEILLE

Président du Comité Scientifique :
Nicolas LEVY

Présidente du Comité d'Organisation :
Anne MONCLA

QR-code

RECUEIL DES SESSIONS SIMULTANEES

www.assises-genetique.org

Palais des Congrès - 2 boulevard Rabatau - Parc Chanot - 13008 Marseille

COMM ORALE 1
Thème 8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

CREER UNE ONTOLOGIE DES MALADIES GENETIQUES: UNE NECESSITE POUR LA RECHERCHE, LE SOIN ET LA SANTE PUBLIQUE.

S Aymé (1), B Bellet (1), J Charlet (1), F Dhombres (1), A Olry (1), A Rath (1)

1. SC11, INSERM, Paris, France

A l'ère de l'automatisation de l'information, il devient impératif de se poser la question de la représentation des connaissances dans le domaine des maladies génétiques et de leurs déterminants, sous une forme qui soit interprétable par les systèmes automatisés. Depuis plus d'un siècle, toutes les maladies sont répertoriés et classées par l'OMS et c'est cette classification, actuellement la CIM10, qui sert à coder les maladies. La dernière édition à plus de 25 ans. Elle ne contient donc presque aucun code concernant des maladies génétiques, ce qui rend les maladies génétiques invisibles dans les systèmes d'information. Pour y remédier Orphanet a entrepris de proposer une classification générale des maladies rares, qui inclut toutes les maladies génétiques. Pour ce faire, toutes les classifications déjà proposées par des groupes experts ont été collectées et une harmonisation de la construction sur un modèle poly-hiérarchique a été menée, pour distinguer le classement selon une logique clinique et le classement selon une logique de mécanisme et d'étiologie, ces deux logiques étant également pertinentes pour certains usages. Cette première version est maintenant soumise à la révision critique de la communauté des experts de chaque discipline pour une version finale qui sera versée dans le modèle générale de l'OMS en Décembre 2011. En 2012 la communauté médicale et scientifique toute entière sera sollicitée pour donner son avis. L'enjeu est très important car cette classification sert à coder les activités dans les systèmes informatisés des établissements, elle sert à des études en santé publique et en économie de la santé. Elle sert aussi en recherche, et dans ce secteur la représentation des connaissances doit être au plus prêt de la réalité biologique pour assurer une interopérabilité des bases de données de maladies humaines avec celles d'autres espèces modèles par exemple. Le web sémantique permet maintenant de faire une véritable recherche in silico qui peut faire progresser la compréhension du rôle des gènes, des mécanismes physiopathologiques et des cibles thérapeutiques. C'est pourquoi nous proposons de transformer la classification Orphanet des maladies rares en une véritable ontologie. Les questions soulevées par cet effort seront présentées pour une discussion sur les meilleures approches. En effet la notion de phénome n'est pas facilement définissable. La granularité de la dissection des entités cliniques, le vocabulaire à utiliser, et le nommage des entités doivent faire l'objet d'un consensus.

COMM ORALE 1
Thème 3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

L'ANALYSE CHROMOSOMIQUE SUR PUCE ADN DEVIENT L'OUTIL STRATEGIQUE PRIORITAIRE POUR LA RECHERCHE D'ANEUSOMIE SEGMENTAIRE. EXPERIENCE DU RESEAU NATIONAL* * DAMIEN SANLAVILLE SOUS L'EGIDE DES 44 CENTRES DE RESEAU ACHROPUCES

D SANLAVILLE (1), CGH Membres du réseau AchroPuces (2)

1. Service de Cytogénétique Constitutionnel, CBPE, HCL, BRON Cedex, France
2. Laboratoires du réseau, Public, France, France

Depuis 2007, le soutien de la DGS (Direction Générale de la Santé a permis l'implémentation de la technique d'Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) dans le champ de l'exploration des déficiences intellectuelles et des syndromes malformatifs. Cette technique a en effet montré son intérêt scientifique et médical en permettant de mettre en évidence de nouveaux syndromes microdélétionnels récurrents et en doublant le taux de déséquilibres chromosomiques pathogènes mis en évidence chez ces patients. En 2010, environ 8 000 ACPA ont été réalisées au sein du réseau en grande partie dans le cadre de l'exploration des syndromes malformatif et de déficience intellectuelle. Le taux de CNVs (Copy Number Variation) pathogène est en moyenne de 20 %, mais ce taux est très variable selon les centres.

On note également une évolution des pratiques avec une part croissante d'ACPA réalisée pour des troubles envahissants du développement/Autisme et des syndromes polymalformatifs interrompus en période prénatale. Par ailleurs 195 ACPA ont été réalisées en période prénatale. Cette tendance devrait s'amplifier.

La technique d'ACPA est maintenant bien implantée en France et disponible sur l'ensemble du territoire. La question du passage en première intention de cette technique pour l'exploration des déficiences intellectuelles et syndromes malformatifs est désormais maintenant clairement posée. Dans cette perspective un guide des bonnes pratiques a été rédigé par le groupe qualité et un premier contrôle qualité (test) a été réalisé. Celui-ci a pointé des divergences entre les centres qui conduiront à une mise à jour du guide des bonnes pratiques. Par ailleurs, un travail national a été réalisé sur la nécessaire information des parents avec la rédaction d'une notice d'information et le modèle de consentement a été revu afin de tenir compte entre autres de la mise en évidence de CNV de signification inconnue en l'état actuel des connaissances ou de CNVs ayant un impact médical sans rapport avec l'indication initiale. Nous présenterons les avancées réalisées au sein du réseau, les projets du réseau comme la constitution d'une base nationale de CNV et les enjeux pour les années à venir avec l'arrivée des techniques de séquençage dit à haut débit.

COMM ORALE 1
Thème 1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

SYNDROME DE TAYBI-LINDER/MOPD1 : UNE COHORTE INTERNATIONALE DE 14 NOUVEAUX CAS AVEC MUTATIONS D'UN PETIT ARN DU SPLICEOSOME

P EDERY (1), E ALIX (2), C MARCAILLOU (3), M SAHBATOU (4), A LABALME (5), F DIJOUD (6), R TOURAINE (7), E TUBACHER (4), MB BOBER (8), S NAMPOOTHIRI (9), PS JOUK (10), E STEICHEN (11), S BERLAND (12), A TOUTAIN (13), I BORG (14), L GUIBAUD (15), I ROUVET (16), CA WISE (17), D SANLAVILLE (2), F ROUSSEAU (3), F CLERGET-DARPOUX (18), AL LEUTENEGGER (19)

1. service de cytogénétique constitutionnelle, HFME, LYON BRON, France
2. service de cytogénétique constitutionnelle, centre de biologie Est, LYON BRON, France
3. IntegraGen, IntegraGen, EVRY, France
4. Fondation Jean Dausset, Centre d'Etude du Polymorphisme Humain, PARIS, France
5. service de Cytogénétique Constitutionnelle, centre de biologie Est, LYON BRON, France
6. centre de pathologie Est, CBPE, LYON BRON, France
7. service de génétique, CHU-Hôpital Nord, SAINT-ETIENNE, France
8. Department of pediatrics, Dupont Hospital for Children, WILMINGTON, USA
9. Department of pediatric genetics, Amrita Institue of Medical Sciences and Research Center, COCHIN, Inde
10. département de génétique, CHU, GRENOBLE, France
11. Department of pediatrics, University Hospital, INNSBRUCK, Autriche
12. Department of Pathology, St Olavs Hospital, TRONDHEIM, Norvege
13. Service de génétique, Hôpital Bretonneau, TOURS, France
14. Department of Pathology, Mater Dei Hospital, Msida, Malte
15. service d'imagerie pédiatrique et foetale, HFME, LYON BRON, France
16. Centre de biotechnologie cellulaire, Centre de biologie et pathologie est, LYON BRON, France
17. Center for Musculoskeletal Research, Texas Scottish Rite Hospital for children, DALLAS, USA
18. UMR-S669, Université Paris Sud, VILLEJUIF, France
19. Institut Universitaire d'Hématologie, Université Paris Diderot, PARIS, France

Les nanismes primordiaux microcéphaliques (MPD) constituent un groupe de pathologies monogéniques, qui s'accompagnent d'un retard de croissance statural extrême, composé du syndrome de Seckel, du syndrome de Meier-Gorlin et des nanismes primordiaux microcéphaliques ostéodysplastiques (MOPD) de types 1 et 2.

Le syndrome de Taybi-Linder ou MOPD1 (OMIM 210710) est un syndrome malformatif autosomique récessif rare caractérisé par un retard de croissance intra-utérin (RCIU) et statural post-natal extrême, une microcéphalie et des malformations cérébrales sévères, une dysmorphie faciale, des anomalies osseuses et des extrémités, des anomalies cutanées et un décès précoce et inexpliqué, en général au décours d'un épisode infectieux banal. Trente quatre cas ont été rapportés à ce jour et une étude phénotypique récente a porté sur plusieurs cas originaires d'une population Amish de l'Ohio.

Dans ce travail, nous décrivons les phénotypes de 14 nouveaux cas de syndrome de Taybi-Linder, originaires de régions variées du monde, qui incluent des signes non rapportés dans la littérature à ce jour. A partir d'une étude exhaustive de la littérature et de la présente cohorte, nous présentons le spectre phénotypique de ce syndrome.

Nous décrivons également les approches méthodologiques qui nous ont permis d'identifier les premières mutations d'un petit ARN (snRNA U4atac) du splicéosome chez tous les patients qui présentent un phénotype caractéristique de ce syndrome (Leutenegger AL et al, Am J Hum Genet 2006 ; Edery P et al, Science 2011). De plus, à partir de nos travaux et des travaux menés par une autre équipe (He H et al, Science 2011), nous décrivons les premières données phénotypiques, génotypiques et fonctionnelles permettant d'établir des corrélations génotype-phénotype.

Nous exposerons ensuite nos hypothèses, concernant les voies de signalisations en aval du snRNA U4atac et candidates pour être impliquées dans les malformations cérébrales et le décès précoces observés dans ce syndrome, obtenues par des expériences de RT-PCR quantitative dans les cellules fibroblastiques des patients. Nous exposerons également les hypothèses qui peuvent être formulées à ce jour pour expliquer le défaut d'épissage résultant des mutations du snRNA U4atac. Enfin, diverses perspectives de recherche, visant à mieux comprendre les mécanismes intimes du défaut d'épissage chez les patients et leurs conséquences phénotypiques, seront évoquées.

COMM ORALE 1
Thème 1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

LE ROLE CENTRAL DU CIL PRIMAIRE DANS LA MATURATION ET LA FONCTION DU TISSU ADIPEUX

A CLAUSSMANN (1), H DOLLFUS (2), M DURAND (2), V marion (3), A MOCKEL (3), C OBRINGER (4), C STOETZEL (1)

1. Laboratoire de Physiopathologie des syndromes rares héréditaires, UNIVERSITE DE STRASBOURG, STRASBOURG, France
2. Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
3. Laboratoire de Physiopathologie des syndromes rares héréditaires, INSERM, STRASBOURG, France
4. Laboratoire de Physiopathologie des syndromes rares héréditaires, HOPITAUX UNIVERSITAIRES DE STRASBOURG, STRASBOURG, France

Comprendre les mécanismes provoquant l'obésité afin d'en réduire la progression et les complications graves est une priorité pour la recherche, pour qui les modèles d'étude représentent des outils essentiels. Les maladies génétiques rares caractérisées par une obésité sont des outils essentiels dans notre compréhension sur les origines de l'obésité. En effet, elles nous permettent de lier un phénotype à un gène donné codant pour une protéine spécifique voire à une voie de signalisation particulière. Parmi ces atteintes génétiques, il existe un groupe de maladies autosomiques récessives monogéniques connues comme les ciliopathies, ayant pour origine un défaut dans le cil primaire, organelle cellulaire quasi-ubiquitaire agissant comme une antenne cellulaire.

Au sein de notre laboratoire, nous avons étudié une ciliopathie emblématique qu'est le syndrome de Bardet Biedl (BBS). Seize gènes (BBS1à BBS16) ont été identifiés à ce jour pour être mutés dans ce syndrome, qui est caractérisé cliniquement, entre autre, par une obésité souvent massive, mais curieusement, le diabète n'est pas un trait marquant de ce syndrome. Nous avons ainsi voulu comprendre, si oui et comment, un défaut ciliaire induit par l'inactivation d'un des gènes BBS dans des cellules souches de la moelle osseuse, notamment les cellules mésenchymateuses, pouvait modifier le processus de maturation du tissu adipeux à partir de ces cellules précurseurs et de ce fait altérer la sensibilité à l'insuline ainsi que la capacité d'absorption du glucose du tissu adipeux mature. Nous avons donc utilisé une approche combinant à la fois une étude clinique sur des patients BBS, une approche in vitro cellulaire et un approche in vivo portant sur plusieurs modèles de souris, dont la souris mutante pour le gène Bbs12 pour démontrer que le recrutement des cellules souches mésenchymateuses vers la différentiation adipogénique est bien sous le contrôle d'un cil primaire transitoire. En effet, un défaut ciliaire causé par l'inactivation du Bbs12 induit une répression des voies anti-adipogeniques telles que les voies Wnt, Sonic Hedgehog, favorisant de ce fait l'adipogénèse. De manière très intéressante, nous avons aussi pu démontrer qu'une inactivation de BBS12, même passagère, pendant l'adipogénèse a pour conséquence une expression plus élevée des acteurs principaux dans la détection de l'insuline et l'absorption du glucose comme le récepteur d'insuline et du transporteur de glucose, GLUT4 dans les adipocytes matures. Ceci pourrait expliquer la faible fréquence chez des patients du BBS. Au-delà de permettre une meilleure prise en charge des patients BBS, ces résultats démontrent l'importance d'étudier et de comprendre les mécanismes impliqués dans des maladies génétiques rares afin de mieux combattre les maladies communes comme l'obésité et le diabète.

COMM ORALE 1
Thème 8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

UNE NOUVELLE DYNAMIQUE DANS LES MALADIES MITOCHONDRIALES : IDENTIFICATION DE MICROARNS MITOCHONDRIAUX.
ACHIEVING A NOVEL DYNAMIC IN MITOCHONDRIAL DISEASES: IDENTIFICATION OF MITOCHONDRIAL MICRORNAS.

S Bandiera (1), S Ruberg (2), S Hanein (1), A Munnich (1), J Demongeot (3), S Lyonnet (1), A Henrion-Caude (1)

1. Département de Génétique URM781, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
2. Genomic Services Department, Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach, Allemagne
3. CNRS FRE 3405, Université J Fourier Grenoble, La Tronche, France

Les maladies mitochondriales regroupent un ensemble de maladies diverses caractérisées par un trouble de la phosphorylation oxydative mitochondriale. A ce jour, il n'existe pas de traitements spécifiques des déficits de la chaîne respiratoire. Récemment identifiés, les microARNs (miRs) sont des petits ARNs non codants issus du noyau de la cellule qui s'associent aux protéines Argonaute pour moduler l'expression des gènes en interférant avec la traduction ou la stabilité des ARNs messagers (ARNm). Dans le but d'identifier de nouveaux vecteurs de régulation de la mitochondrie, nous avons fait l'hypothèse d'une localisation mitochondriale de ces miRs et d'une protéine du complexe de silencing, la protéine Argonaute 2.

Par microarray, nous avons analysé la distribution des miRNAs exprimés dans des fractions d'ARN mitochondriale et cytosolique issues de mêmes cellules HeLa. La mise en évidence d'une expression différentielle de 57 miRNAs dans ces deux sous-fractions de cellules HeLa nous a permis d'identifier 13 miRNAs spécifiquement enrichis à la mitochondrie, que nous avons désignés « mitomiRs ». Cet enrichissement a été validé par RT-PCR pour miR-494, miR-1275 et miR-1974. Afin d'étudier les causes de la localisation mitochondriale de ces 13 mitomiRs, nous avons précisé leur contexte génomique, leur conservation parmi les espèces, et leurs caractéristiques intrinsèques (taille, contenu nucléotidique, paramètres thermodynamiques). Par des analyses de voies de signalisation, nous avons montré l'implication des mitomiRs dans la régulation de la phosphorylation oxydative. Enfin, la pertinence fonctionnelle de ces miRs à la mitochondrie est soulignée par la mise en évidence d'une localisation mitochondriale d'Argonaute 2 révélée par microscopie confocale et immunoblot dans trois lignées cellulaires humaines, ainsi que par co-immunoprécipitation de la protéine avec le transcrit mitochondriale COX3.

Ainsi, la localisation mitochondriale des miRNAs et Argonaute 2 permet d'envisager un tout nouveau type de communication au sein de la cellule entre le noyau et les mitochondries. En outre, ces mitomiRs pourraient fournir un moyen dynamique de corriger les mutations de l'ADN mitochondriale responsables de maladies.

COMM ORALE 1
Thème 7.Développement et foetopathologie

DELETION GERMINALE DU CLUSTER MIR-17~92 DANS LE SYNDROME DE FEINGOLD

J Amiel (1), P Callier (2), E Yao (3), L Faivre (4), V Drouin (5), S Cariou (6), A Van Haeringen (7), D Genevieve (8), A Goldenberg (5), M Oufadem (9), S Manouvrier (10), A Munnich (9), J Alves Vidigal (3), M Vekemans (11), S Lyonnet (11), A Henrion-Caude (11), A Ventura (3), L de Pontual (12)

1. Unité INSERM U-781, Université Paris Descartes, Génétique et Cytogénétique, AP-HP, Hôpital Necker-Enfant Malades, AP-HP, Paris, France, paris, France
2. Service de Génétique, Hôpital d'enfants, Dijon, France
3. Cancer Biology and Genetics Program, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, NYC, USA
4. Génétique, Hôpital d'enfants, Dijon, France
5. Génétique, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
6. U781, Hôpital Necker-Enfant Malades, AP-HP, Paris, France, paris, France
7. Department of Human and Clinical Genetics, Leiden University Medical Center, Leiden, Pays-bas
8. Génétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
9. Unité INSERM U-781, Hôpital Necker-Enfant Malades, Paris, France
10. Génétique Clinique, Hôpital J. de Flandre, Lille, France
11. Unité INSERM U-781, Hôpital Necker-Enfant Malades, paris, France
12. Pédiatrie, Hôpital Jean Verdier, Université Paris XIII, AP-HP, Bondy, France

Le syndrome de Feingold (FS, MIM164280) est caractérisé par une microcéphalie, une petite taille relative et des anomalies des extrémités. Peuvent s'y associer d'autres malformations d'organes (atrésie digestive, cardiopathie congénitale, hypoplasie rénale). Le gène majeur est MYCN (MIM 164840) localisé en 2p24 et des délétions / mutations perte de fonction hétérozygotes sont identifiées dans 50 à 70 % des cas.

Nous avons réalisé une CGH-array (Agilent 105 ou 244k) chez 10 cas index remplissant les critères cliniques du syndrome mais sans variation identifiée au locus MYCN. Dans deux cas familiaux (avec 2 et 3 sujets atteints sur deux générations respectivement), nous avons identifié une délétion 13q31.3 de 2.98 Mb et 165 kb respectivement. La région minimale critique contient miR-17~92 et le premier exon du gène GPC5. Aucune mutation de la séquence codante de GPC5 et de miR-17~92 n'a été trouvée dans les 8 cas sans délétion au locus. En interrogeant la base de données DECIPHER, nous avons identifié un cas sporadique présentant une délétion de 180kb en 13q31.3 emportant miR-17~92 et le 1er exon de GPC5, cas dont les signes cliniques sont compatibles avec le diagnostic de FS.

miR-17~92 est un micro ARN polycistronique, aussi appelé Oncomir-1, qui est transcrit en six miRs matures et qui est activé par les protéines de la famille MYC. Nous avons montré que son inactivation chez la souris entraine un retard de croissance et une mort dès la naissance. Les souris hétérozygotes sont viables et fertiles, mais elles sont plus petites, microcéphales et présentent une brachymésophalangie du 5ème rayon. Les souris homozygotes présentent une absence complète de la 2ème phalange du 5ème rayon, une brachymésophalagie du 2ème et une hypoplasie du 1er rayon. Enfin, nos données montrent que l'expression de GPC5 est comparable dans les bourgeons de membres des souris homozygotes et des souris sauvages.

Nous démontrons que miR-17~92 est le deuxième gène responsable du syndrome de Feingold et qu'une régulation fine de MYCN via miR-17~92 est nécessaire pour une croissance et un développement squelettique normal chez l'Homme et la souris.

Le rôle des miRs dans les malformations congénitales reste à évaluer, mais ce travail établi déjà que la dérégulation de l'expression d'une batterie de miRs oncogéniques peut résulter en une anomalie précoce du développement

COMM ORALE 2
Thème 7.Développement et foetopathologie

KIF7 (COSTAL2) MUTATIONS CAUSE FETAL HYDROLETHALUS AND ACROCALLOSAL SYNDROMES

DES MUTATIONS DE KIF7 (COSTAL2) SONT RESPONSABLES DES SYNDROMES HYDROLETHALUS ET ACROCALLEUX

S Thomas (1), A Putoux (1), KLM Coene (2), EE Davis (3), Y Alanay (4), G Ogur (5), A Munnich (1), V Cormier- Daire (1), R Hennekam (6), E Colin (7), NA Akarsu (8), S Lyonnet (9), F Encha-Razavi (9), M Winey (10), B Durand (11), N Katsanis (3), M. Gonzales (12), PL Beales (13), M Vekemans (9), T Attié-Bitach (9)

1. INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Department of Human Genetics, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, Pays-bas
3. Departments of Cell Biology and Pediatrics, Center for Human Disease Modeling, Duke University, Durham, USA
4. Pediatric Genetics Unit, Department of Pediatrics, Hacettepe University Medical Faculty, Ankara, Turquie
5. Department of Medical/Pediatric Genetics, Ondokuz Mayis University, Samsun, Turquie
6. Department of Pediatrics, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, Pays-bas
7. Service de Genetique, Hopital d'Angers, Angers, France
8. Gene Mapping Laboratory, Department of Medical Genetics, University Medical Faculty, Ankara, Turquie
9. INSERM U781, Hopital Necker Enfants Malades, Paris, France
10. MCDB, University of Colorado at Boulder, Boulder, USA
11. UMR 5534, Universite de Lyon, Lyon, France
12. Service de Genetique et d'Embryologie Medicales, Hopital Armand Trousseau, Paris, France
13. Molecular Medicine Unit, University College London (UCL) Institute of Child Health, London, Royaume-Uni

KIF7, the human ortholog of Drosophila Costal 2, represents a key component of the Hedgehog (Hh) signaling pathway which in vertebrates is dependent upon primary cilium. Here we report mutations in KIF7 in 11 unrelated individuals with two overlapping disorders, the rare Hydrolethalus (HLS, OMIM 236680) and Acrocallosal syndromes (ACLS, OMIM 200990) sharing polydactyly, midline brain and facial abnormalities confirming these two syndromes as members of the ciliopathy group, and extending the phenotypic spectrum of ACLS. Transcriptome-wide analysis on KIF7 mutated patient RNA showed a specific up-regulation of most of the known Gli transcription factor target genes associated with impaired GLI3-R processing and consistent with a major role of KIF7 in the transduction of the Hh signaling pathway in humans. KIF7 is also a likely contributor of alleles across the ciliopathy phenotypic spectrum; sequencing of a cohort of patients with diverse ciliopathies revealed several heterozygous missense changes which, upon in vivo testing in zebrafish were shown to be detrimental to protein function. Furthermore, consistent with an epistatic role for such alleles, in vivo genetic interaction studies in zebrafish indicated that KIF7 hypomorphic alleles could exacerbate the phenotype induced by the loss of other ciliopathy loci. Our data demonstrate the conserved role of KIF7 in human primary cilia to ensure the transduction of the Hedgehog signaling pathway through the regulation of Gli transcription factor activity and expand the clinical spectrum of ciliopathies.

COMM ORALE 2
Thème 2.Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

APPORT DU SEQUENÇAGE HAUT DEBIT DANS LE CLONAGE DES POINTS DE CASSURE CHEZ QUATRE PATIENTS PORTEURS DE REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES APPAREMMENT EQUILIBRES A PHENOTYPE ANORMAL

C Schluth-Bolard (1), G Lesca (1), M Till (2), A Labalme (3), N Kryza-Boutry (4), MP Cordier (3), M Rossi (3), P Edery (1), D Sanlaville (1)

1. Service de cytogénétique constitutionnelle - CBPE, TIGER Team INSERM U1028 CNRS UMR5292,UCBLI, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie Est, Bron, France
3. Service de cytogénétique constitutionnelle, Centre de Biologie Est, Bron, France
4. Laboratoire de génétique moléculaire - Hôpital Edouard Herriot, TIGER Team INSERM U1028 CNRS UMR5292,UCBLI, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Les remaniements chromosomiques apparemment équilibrés sont associés à un phénotype anormal dans 6 à 9 % des cas. Le développement de la cytogénétique moléculaire avec la FISH et la CGH-array a montré que le phénotype est secondaire à un déséquilibre cryptique dans 40 % des cas. Pour une partie des cas restants, le phénotype est attribué à une pathologie du point de cassure, soit par interruption d'un gène, soit par effet de position. Cependant, le clonage des points de cassure par les méthodes classiques comme la FISH demeure long, fastidieux et imprécis. Récemment, le séquençage haut débit a été utilisé avec succès pour cloner les points de cassure de remaniements chromosomiques apparemment équilibrés avec une précision d'une centaine de paires de bases, montrant la faisabilité de cette méthode.

Nous avions précédemment étudié en CGH-array une cohorte de 47 patients porteurs de remaniements chromosomiques apparemment équilibrés à phénotype anormal et mis en évidence un déséquilibre génomique chez 20 d'entre eux (Schluth-Bolard et al., EJMG, 2009). A présent, nous avons étudié, par séquençage haut-débit, quatre des 27 patients pour lesquels aucun déséquilibre n'a été mis en évidence afin de caractériser précisément les points de cassure et d'identifier des gènes responsables du phénotype.

Trois des patients sont atteints d'une déficience intellectuelle, associée à une microcéphalie et une translocation (46,XX,t(1;18)(q11.1;q12.1)dn), une épilepsie et une inversion (46,XX,inv(8)(q21;q24.2)pat) et une dysmorphie faciale et un réarrangement chromosomique complexe (46,XY,t(1;7;11)(p35;q33;q12)dn). Le quatrième patient est un fœtus présentant une forme rare et létale de syndrome de Beckwith-Wiedemann secondaire à une inversion du chromosome 11 d'origine maternelle (46,XY,inv(11)(p15q13)mat).

Pour chaque patient, un séquençage haut débit du génome complet a été réalisé sur un appareil Illumina selon un protocole « paired-end » (Integragen). Les résultats sont en cours d'analyse et seront vérifiés par PCR ou séquençage au niveau des fragments de jonction.

Nous discuterons des avantages et des difficultés du séquençage haut débit dans le clonage des points de cassure des remaniements chromosomiques, ainsi que de l'implication des gènes identifiés dans le phénotype des patients. Cette étude permettra de comprendre les mécanismes des syndromes de Beckwith-Wiedemann par inversion et d'identifier de nouveaux gènes candidats pour le retard mental et les anomalies du développement.

COMM ORALE 2
Thème 1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

UTILISATION DES TECHNOLOGIES DE SEQUENÇAGE DE NOUVELLE GENERATION POUR LE DIAGNOSTIC DES CILIOPATHIES

E FILHOL (1), C MASSON (2), C HUBER (3), I PERRAULT (3), F TORES (2), S PRUVOST (4), M ZARHATE (4), C BOLE-FEYSOT (4), P NITSCHKE (2), C JEANPIERRE (1), R SALOMON (5), C ANTIGNAC (6), JM ROZET (3), V CORMIER-DAIRE (6), T ATTIE-BITACH (6), S SAUNIER (1)

1. Inserm U983, Université Paris Descartes, Hôpital Necker, Paris, France
2. Plateforme de bioinformatique de l'université Paris Descartes, Hôpital Necker, Paris, France
3. Inserm U781, Université Paris Descartes, Hôpital Necker, Paris, France
4. Plateforme Génomique de la Fondation Imagine, Hôpital Necker, Paris, France
5. Inserm U983, Université Paris Descartes, AP-HP, Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Necker, Paris, France
6. Inserm U781, Université Paris Descartes, AP-HP, Département de Génétique, Hôpital Necker, Paris, France

Les ciliopathies sont des pathologies génétiques hétérogènes dues à des défauts de fonction du cil et/ou du centrosome. Elles couvrent un large spectre phénotypique et regroupent maladies kystiques rénales [polykystose rénale (PKD), néphronophtise (NPH), syndromes de Joubert (JBTS) de Meckel (MKS) et de Bardet-Bield (BBS)], dystrophie rétinienne (syndrome de Senior-Løken, SLS), dysplasie des côtes courtes [SRP pour « Short Rib Polydactyly », incluant la dystrophie thoracique asphyxiante de Jeune (JATD)], dysplasie cranioectodermique (syndrome de Sensenbrenner) et polydactylie. Afin d'identifier de nouveaux gènes impliqués dans ces pathologies, nous avons mis au point une stratégie de séquençage à haut débit d'exons, ciblée sur 1600 gènes codant pour des protéines localisées au niveau du cil/centrosome. Les gènes ont été choisis à partir des bases de données Cilia Proteome et Cildb ainsi que de recherches bibliographiques sur les modèles cellulaires et animaux de protéines cilaires et centrosomales. La puce de capture a été générée grâce à la technologie Agilent SureSelect. Elle couvre environ 30 000 exons, pour une taille de 5,3 Mb. Le séquençage a été réalisé sur SOLID4 ou SOLID5500xl (Lifetech). Un séquençage d'exome ciliaire de 31 patients atteints de ciliopathies (9 NPH, 6 JBTS, 6 JATD, 1 SRP-II, 5 SLS and 4 MKS) a été réalisé. Nous avons confirmé la présence de mutations de BBS6 et BBS10 chez un patient JBTS analysé comme contrôle. Des mutations pathogènes ont été détectées dans des gènes connus (TTC21B, NPHP4, IFT80, DYNC2H1, IFT122 and WDR35) dans 10 familles avec NPH et situs inversus, JATD ou JBTS. De plus, dans 6 cas, nous avons identifié des mutations homozygotes/hétérozygotes composites, ou simple hétérozygotes touchant 3 gènes non impliqués jusqu'à maintenant dans des ciliopathies. Ceci démontre l'efficacité, en termes de résultats, de coût et de rapidité, de cette approche ciblée pour identifier de nouveaux gènes responsables de ciliopathie. L'analyse de nombreux gènes ciliaires chez les patients atteints de maladie kystique rénale associée à des atteintes extra-rénales permettra également d'explorer l'hypothèse que l'association de mutations touchant plusieurs gènes (charge mutationnelle) puisse expliquer l'hétérogénéité clinique et avoir une valeur prédictive pour l'évolution de la maladie.

COMM ORALE 2
Thème 7.Développement et foetopathologie

IDENTIFICATION DE NOUVEAUX GENES IMPLIQUES DANS LES HYPODYSPLASIES RENALES.

C JEANPIERRE (1), M PARISOT (1), C BOLE-FEYSOT (2), S PRUVOST (2), M ZARHATE (2), P NITSCHKE (3), W CARPENTIER (4), J MARTINOVIC (5), J AMIEL (6), P BLANCHET (7), L HEIDET (8), S SAUNIER (1), C ANTIGNAC (9), R SALOMON (10)

1. Inserm U983, Université Paris Descartes, Hôpital Necker, Paris, France
2. Plateforme Génomique de la Fondation Imagine, Hôpital Necker, Paris, France
3. Plateforme de bioinformatique de l'université Paris Descartes, Hôpital Necker, Paris, France
4. Plateforme Post-Génomique P3S, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Unité de Foetopathologie, Laboratoire Cerba / AP-HP, Hôpital Antoine Béclère, St Ouen l'Aumône / Clamart, France
6. Inserm U781, Université paris Descartes, Hôpital Necker, Paris, France
7. Service de Génétique et de Foetopathologie, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
8. AP-HP, Centre de Référence des Maladies Rénales Héréditaires de l'Enfant et de l'Adulte (MARHEA), Hôpital Necker, Paris, France
9. Inserm U983, Université Paris Descartes, AP-HP, Département de Génétique, Hôpital Necker, Paris, France
10. Inserm U781, Université paris Descartes, AP-HP, Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Necker, Paris, France

Les hypodysplasies rénales (HDR) sont des anomalies du développement rénal caractérisées par une réduction du nombre de néphrons (la forme extrême étant l'agénésie rénale) et/ou des anomalies de différenciation de type dysplasie avec ou sans kystes, la forme dysplasique la plus grave étant la dysplasie multikystique. Elles constituent l'une des causes majeures d'insuffisance rénale chez l'enfant et justifient une interruption médicale de grossesse dans les formes les plus graves. Bien que la majorité des cas d'HDR apparaissent de façon sporadique et isolée, l'existence de formes syndromiques et familiales compatibles avec une transmission dominante ou récessive indique l'existence de facteurs génétiques. Des mutations hétérozygotes de gènes impliqués dans le développement rénal ont été mises en évidence chez des patients atteints de formes syndromiques [PAX2 (syndrome rein-colobome), EYA1 et SIX1 (syndrome branchio-oto-rénal), HNF1B (association rein kystique et diabète)] ainsi que chez des fœtus avec agénésie rénale (RET). Cependant, l'ensemble de ces mutations ne concerne qu'une petite proportion des patients, indiquant que d'autres gènes restent à identifier.

Nous avons réalisé un séquençage d'exome total chez 5 foetus issus de familles consanguines et présentant soit une agénésie rénale bilatérale soit une dysplasie multikystique sévère responsable d'oligoamnios. La technologie utilisée a été la capture d'exons grâce à la technologie SureSelect (Agilent), suivie d'un séquençage haut débit sur SOLIDTM 4 (Applied Biosystem, Inc). L'analyse des variants, couplée pour trois des foetus à l'identification préalable de régions d'homozygotie, a permis d'identifier des mutations homozygotes dans trois nouveaux gènes. Ces gènes sont exprimés lors du développement rénal et codent l'un pour une protéine de la famille des FGF et les deux autres pour des intégrines. Les mutations ont été validées par séquençage classique, par l'analyse de plusieurs foetus atteints et de sujets sains de chaque famille. Ces gènes sont actuellement analysés dans l'ensemble de notre cohorte de patients et foetus avec HDR. Des études fonctionnelles permettront d'étudier l'effet des variants identifiés sur la néphrogénèse.

COMM ORALE 2
Thème 1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

ETUDE D'UNE SERIE DE 113 PATIENTS AVEC SYNDROME DE TREACHER-COLLINS/FRANCESCHETTI: ANALYSE MOLECULAIRE DE TCOF1, POLR1D ET POLR1C ET ETUDE DE LEUR EXPRESSION PENDANT LE DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE HUMAIN.

C Collet (1), M Vincent (2), S Thomas (3), S Marlin (4), E sanchez (5), A Harroche (6), K Dahan (7), T Attié (6), C Herlin (8), G Captier (8), C Blanchet (9), A Ermakov (10), M Bigorre (8), JL Laplanche (1), M Mondain (9), M Willems (5), B Doray (11), P Sarda (5), F Djouad (10), D Geneviève (5)

1. Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France
2. Département de Génétique Médicale, CHRU Montpellier, Université Montpellier 1, CLAD, Montpellier, Montpellier, France
3. Unité Inserm U781, Département de Génétique,, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
4. Centre de Référence des Surdités Génétiques, Service de Génétique, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, France
5. Département de Génétique Médicale, CHRU Montpellier, Université Montpellier 1, Unité Inserm U844, CLAD Montpellier, Montpellier, France
6. Unité Inserm U781, Département de Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
7. Génétique clinique, Université Catholique de Louvain,, Bruxelles, Belgique
8. Chirurgie plastique infantile, CHRU Montpellier, Université Montpellier 1, Montpellier, France
9. Service d'ORL, CHRU Montpellier, Université Montpellier 1, Montpellier, France
10. Unité Inserm U844, Institut des Neurosciences de Montpellier, Montpellier, France
11. Service de génétique médicale, Hôpital Hautepierre, Strasbourg, France

Le syndrome de Treacher-Collins/Franceschetti (STCF, MIM 154500) est une pathologie du développement craniofacial, impliquant les 1er et 2ème arcs branchiaux. Il a une expressivité clinique très variable, associant de manière bilatérale une micrognathie, une microtie, une hypoplasie des os malaires, ainsi que des fentes palpébrales en bas en dehors et un colobome de la paupière inférieure.

Le STCF est génétiquement hétérogène. En fonction des séries déjà publiées, des mutations ont été détectées à l'état hétérozygote dans le gène TCOF1 chez 70% à 90% des patients. Très récemment, des anomalies moléculaires dans les gènes POLR1D et POLR1C codant pour des sous-unités de l'ARN polymerases I and III ont été identifiées dans le STCF par séquençage et par CGH-array (1 cas de délétion). Selon cette première étude, les mutations dans ces 2 gènes représenteraient 2% des patients atteints par STCF, avec un mode de transmission autosomique dominant pour POLR1D et autosomique récessif pour POLR1C.

Notre étude a porté sur une cohorte de 113 patients avec STCF: 82 patients sont porteurs d'une mutation dans le gène TCOF1 (soit 72.5%) dont 78 avec une mutation ponctuelle et 4 avec une délétion complète ou partielle du gène (ce qui n'a jamais été rapporté jusqu'à présent) et 4 patients sont porteurs d'une mutation dans POLR1D (soit 4 % des patients atteints de STCF) et aucun dans le gène POLR1C. Dans le gène POLR1D, 2 cas sont sporadiques et 2 cas sont d'origine familiale. Tous ont une symptomatologie concordante avec les critères du STCF. De façon surprenante, nous avons identifié une mutation faux-sens à l'état homozygote dans POLR1D chez un patient, retrouvée à l'état hétérozygote chez ses parents asymptomatiques. Ces données suggèrent un mode de transmission autosomique récessif dans cette famille pour POLR1D, ce qui n'a encore jamais été décrit. Par ailleurs, la transcription de du gène TCOF1 est diminuée en cas de mutation homozygote dans POLR1D.

En parallèle nous avons étudié l'expression pendant le développement embryonnaire humain de TCOF1, POLR1D et POLR1C par immunohistochimie. L'expression de TCOF1 dans l'embryon humain est spécifique des crêtes neurales et des cellules dérivées des crêtes neurales formant le

cranioectoderme (bourgeons mandibulaire et maxillaires supérieur) alors que l'expression de POLR1C et POLR1D est ubiquitaire. Nous avons par ailleurs observé une expression variable dans le temps de POLR1D et POLR1C dans le massif craniofacial à 30 jours et 35 jours de développement, expliquant l'apparition d'un phénotype en cas d'anomalie dans l'un de ces 2 gènes par défaut de redondance à l'échelle temporelle. Notre étude a permis de décrire un nouveau mode de transmission en cas de mutation dans le gène POLR1D. Par ailleurs, elle a apporté des informations sur l'expression de ces nouveaux acteurs permettant de mieux comprendre cette pathologie.

COMM ORALE 2
Thème 4. Gènes, chromosomes et cancer

A SUMOYLATION-DEFECTIVE MITF GERMLINE MUTATION PREDISPOSES TO MELANOMA AND RENAL CARCINOMA

C Bertolotto (1), B Bressac-de Paillerets (2)

1. INSERM U895, C3M, Nice, France
2. Génétique, Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France

So far, no common environmental and/or phenotypic factor has been associated with melanoma and renal cell carcinoma (RCC). The known risk factors for melanoma include sun exposure, pigmentation and nevus phenotypes; risk factors associated with RCC include smoking, obesity and hypertension. A recent study of coexisting melanoma and RCC in the same patients supports a genetic predisposition underlying the association between these two cancers. The microphthalmia-associated transcription factor (MITF) has been proposed to act as a melanoma oncogene; it also stimulates the transcription of hypoxia inducible factor (HIF1A), the pathway of which is targeted by kidney cancer susceptibility genes. We therefore proposed that MITF might have a role in conferring a genetic predisposition to co-occurring melanoma and RCC. Here we identify a germline missense substitution in MITF (Mi-E318K) that occurred at a significantly higher frequency in genetically enriched patients affected with melanoma, RCC or both cancers, when compared with controls. Overall, Mi-E318K carriers had a higher than fivefold increased risk of developing melanoma, RCC or both cancers. Codon 318 is located in a small-ubiquitin-like modifier (SUMO) consensus site (YKXE) and Mi-E318K severely impaired SUMOylation of MITF. Mi-E318K enhanced MITF protein binding to the HIF1A promoter and increased its transcriptional activity compared to wild-type MITF. Further, we observed a global increase in Mi-E318K-occupied loci. In an RCC cell line, gene expression profiling identified a Mi-E318K signature related to cell growth, proliferation and inflammation. Lastly, the mutant protein enhanced melanocytic and renal cell clonogenicity, migration and invasion, consistent with a gain-of-function role in tumorigenesis. Our data provide insights into the link between SUMOylation, transcription and cancer.

COMM ORALE 2
Thème 1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

LE GRAND ARN NON CODANT ANRIL MODULE LA FORMATION DES NEUROFIBROMES PLEXIFORMES DANS LA NEUROFIBROMATOSE DE TYPE 1

E Pasmant (1), A Sabbagh (1), J Masliah-Planchon (1), N Ortonne (2), I Laurendeau (3), S Ferkal (4), K Leroy (5), L Valeyrie-Allanore (6), B Parfait (1), D Vidaud (1), I Bièche (1), L Lantieri (7), P Wolkenstein (8), M Vidaud (1)

1. UMR745 INSERM et Service de Biochimie et de Génétique Moléculaire, Université Paris Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques et Hôpital Beaujon, AP-HP, Paris, France
2. Département d'Anatomo-Cytopathologie, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France
3. UMR745 INSERM, Université Paris Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris, France
4. Centre d'Investigation Clinique 006, Groupe hospitalier Henri Mondor-Albert Chenevier, Créteil, France
5. Platform of Biological Ressources, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France
6. Département of Dermatologie, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France
7. Service de chirurgie plastique et reconstructive, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France
8. Département of Dermatologie, Hôpital Henri-Mondor, Crétail, France

Introduction La neurofibromatose de type 1 (NF1) est un syndrome de prédisposition tumorale qui présente une incidence d'environ une naissance pour 2500. La NF1 se caractérise par une importante variabilité d'expression phénotypique, tant à l'échelle inter- qu'intra-familiale. Une complication fréquente de la maladie est la survenue de neurofibromes plexiformes (PNF) associés à une importante morbi-mortalité. Objectif L'observation de l'existence d'une composante génétique non liée au locus NF1 dans la détermination du nombre de PNFs, nous a conduits à rechercher des gènes modificateurs influençant l'émergence de ces tumeurs Résultats Afin d'identifier des gènes candidats, une approche de type puce CGH pangénomique a été menée dans une série de 22 PNFs excisés chez 18 patients atteints de NF1, à la recherche d'anomalies spécifiques, autres que le deuxième événement somatique d'inactivation de NF1. Les uniques altérations observées ont été des délétions récurrentes au niveau de la région 9p21.3 (cluster des gènes CDKN2A/B-ARF-ANRIL). Cinq SNPs marqueurs de la région 9p21.3 ont alors été génotypés chez 1105 individus de 306 familles NF et un test d'association sur données familiales a permis de montrer qu'il existait une association significative du SNP rs2151280 avec le nombre de neurofibromes plexiformes (P=0,0004). Ce SNP est situé au niveau du gène ANRIL, un grand ARN non codant qui joue un rôle majeur dans la régulation du locus CDKN2A/B-ARF. L'analyse de l'expression des gènes CDKN2A, CDKN2B, ARF et ANRIL par RT-PCR quantitative en temps réel réalisée à partir des ARN leucocytaires de 124 patients NF1 a montré que l'allèle T du SNP rs2151280 (à risque d'un plus grand nombre de neurofibromes) était associé à une réduction du taux de transcrit d'ANRIL. Conclusion Nos résultats mettent en évidence pour la première fois l'existence d'un gène modificateur dans la NF1, influençant le nombre de neurofibromes plexiformes, symptômes majeurs de la maladie (Pasmant et al. J Natl Cancer Inst 2011).

COMM ORALE 2
Thème 1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

FROM EMERY-DREIFUSS MUSCULAR DYSTROPHY TO STRIATED MUSCLE LAMINOPATHIES. A 12 YEARS RETROSPECTIVE.

R Ben Yaou (1), C Béroud (2), G Bonne (3), K Chikhaoui (1), L Demay (4), Fre French network "Emery-Deifuss Musuclar Dystrophy & other nucleopathies (5), D Hamroun (2), I Nelson (6), P Richard (7)

1. INSERM, U974, IFR14, CNRS, UMR 7215, Institut de Myologie,Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, UM 76, Faculté de médecine, Département de recherche clinique, Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, paris, France
2. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU de Montpellier, Inserm U827, Montpellier, France
3. INSERM, U974, IFR14, CNRS, UMR 7215, Institut de Myologie,Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, UM 76, Faculté de médecine, AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, U.F. Myogénétique et Cardiogénétique, service de Biochimie Métabolique, paris, France
4. AP-HP, U.F. Myogénétique et Cardiogénétique, service de Biochimie Métabolique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, paris, France
5. INSERM, U974, IFR14, CNRS, UMR 7215,, Institut de Myologie, paris, France
6. INSERM, U974, IFR14, CNRS, UMR 7215, Institut de Myologie, Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, UM 76, Faculté de médecine, paris, France
7. AP-HP, U.F. Myogénétique et Cardiogénétique, service de Biochimie Métabolique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière,, paris, France

In 1999 we reported the first LMNA gene mutation responsible for the autosomal Emery-Dreifuss muscular dystrophy (EDMD). LMNA gene encodes the nuclear envelope proteins lamins A/C. Since then, a considerable number of patients carrying LMNA mutations have been reported in other striated muscle disorders (including LGMD1B and isolated cardiac disease) or in axonal neuropathies, partial lipodystrophies and premature ageing syndromes. These disorders are collectively named laminopathies.

We have reviewed clinical and genetic data of LMNA mutation carriers including non published cases (412 carriers, 221 families, 149 different mutations) and those reported in the literature (1706 carriers, 805 families, 335 different mutations). By using the UMD-LMNA database (Universal Mutation Database), we have looked for molecular epidemiology and correlations between phenotype and genotype, with a special focus on striated muscle laminopathies (SML).

SML has been found in more than 62% of the mutation carriers (1319 patients) either as an isolated feature or as part of a multisystem dystrophy syndrome. When isolated (1238 patients, 58% of carriers), EDMD, LGMD1B and isolate cardiac disease were found respectively in 31% (413 patients), 15% (202 patients) and 40% (534 patients) of the carriers.

LMNA mutations causing SML are spread along the entire gene although exons 3, 8 and 9 are hotspots exons. Seventy three percent are missense or in-frame deletion/insertions. Interestingly, truncating mutations (nonsense or out-of-frame deletion/insertions) and intronic mutations account for 19% of the SML cases while they represent only 1.7% of non-SML laminopathies cases.

Moreover, different mutations located at different lamins A/C functional domains can give rise to the same clinical condition. Conversely certain mutations can cause completely different diseases even within the same family. These findings suggest an important inter- and intra-familial phenotypic heterogeneity in SML and in laminopathies in general. The molecular bases of this heterogeneity remain to be addressed and represent one of the future challenges in this area.

session simultanée 1
Thème 1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

DYSTROPHIE THORACIQUE DE JEUNE, ETUDE PHENOTYPIQUE ET MOLECULAIRE DE 42 FAMILLES

C HUBER-LEQUESNE (1), G BAUJAT (1), R CAUMES (1), C BAUMANN (2), E BIETH (3), A COESLIER-DIEUX (4), A DAVID (5), C DELACOURT (6), AL DELEZOIDE (7), C DO NGOC THANH (8), B ESTOURNET (9), L FAIVRE (10), E FLORI (11), C FRANCANNET (12), D GAILLARD (13), F GIULIANO (14), M GONZALES (15), H KAYIARANGWA (16), M HOLDER (4), F LACAILLE (17), M LE BOURGEOIS (18), B LE FLIBLEC (19), P LOGET (20), M MATHIEU (21), J MARTINOVIC (22), F PRIEUR (23), M ROSSI (24), R SALOMON (25), S SIGAUDY (26), M LE MERRER (27), KH LE QUAN SANG (28), A MUNNICH (1), V CORMIER-DAIRE (1)

1. Service de Génétique, INSERM U781, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
2. Département de génétique clinique, Hôpital Robert Debré,, Paris, France
3. Département de Génétique, Hôpital Purpan, Toulouse, France
4. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandres, Lille, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
6. Service de Pneumologie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
7. Service de Biologie du Développement, Hôpital Robert Debré, Paris, France
8. Médecine Physique et de Réadaptation de l'Enfant, Hôpital Raymond Pointcarré, Garches, France
9. Médecine Physique et de Réadaptation de l'Enfant, Hôpital Raymond Point Carré, Garches, France
10. Centre de Génétique, Hôpital d'Enfant, Dijon, France
11. Service de Cytogénétique, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
12. Service de Génétique Médicale, Hôpital Dieu, Clermont Ferrand, France
13. Service de Génétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Maison Blanche, Reims, France
14. Département de génétique, Hôpital CHU l'Archet 2, Nice, France
15. Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
16. Service de Génétique, AP-HP, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France
17. Service de Gastroentérologie et Hépathologie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
18. Département de Pneumologie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
19. Service de Gynécologie Obstétrique, Centre Hospitalier Yves de Foll, Saint Brieux, France
20. Service d'Anatomie et de Cytogénétique Pathologiques, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, Rennes, France
21. Laboratoire de Biologie de La Reproduction et Cytogénétique, Centre de Gynécologie Obstétrique, Amiens, France
22. Unité de Foetophatologie, Laboratoire Cerba, Cergy Pontoise, France
23. Service de Génétique Clinique, Chromosomique et Moléculaire, CHU de Saint Etienne, Saint Etienne & Une mutation de la sous-unité MED23 du complexe mediateur lie anomalie d'expression des gènes précoces et déficience intellectuelle

La Dystrophie Thoracique de Jeune (DTJ) est une chondrodysplasie sévère transmise selon un mode autosomique récessif et caractérisée par une étroitesse thoracique et des anomalies radiologiques (côtes courtes, bassin en trident, anomalies métaphysaires). Une polydactylie et des atteintes rénale, hépatique et ophtalmologique sont présentes de façon inconstante. A ce jour, deux gènes on été identifiés, IFT80 et DYNC2H1, qui codent pour des protéines ciliaires impliquées dans le transport antérograde des cils. Dans le cadre d'un PHRC national (AOM 06 031), nous avons rassemblé une cohorte de 42 familles (55 patients dont 29 fœtus) porteurs de la DTJ, afin de combiner une étude clinique à une étude moléculaire d'IFT80 et de DYNC2H1. Sur le plan clinique, le suivi postnatal (26 patients de 6 mois à 36 ans) montre que le pronostic vital dépend de la sévérité thoracique et de son retentissement respiratoire allant de patients asymptomatiques (50% des cas de notre série) à un besoin de ventilation non invasive à long terme (23%). Les atteintes rénale et hépatique sont < 20% tandis que l' atteint rétinienne est présentes chez 35% des patients de notre série. On constate également un retard de croissance post-natal (40%) et des complications orthopédiques (anomalies de la charnière cervicale, scoliose, dysplasie de la hanche, 30%). Sur le plan moléculaire, IFT80 et DYNC2H1 ont été étudiés dans 30 familles parmi les 42 incluses : 63% des familles sont mutées dans le gène DYNC2H1, 7% sont mutées dans IFT80 et pour 30% des familles IFT80 et DYNC2H1 ont été exclus. Parmi les familles mutées, une seule mutation hétérozygote dans DYNC2H1 ou dans IFT80 a été

identifiée pour 6 familles non consanguines. Ces résultats préliminaires montrent qu'il existe une hétérogénéité clinique et génétique de la DTJ. DYNC2H1 est le gène majeur responsable de la DTJ (63% des cas) tandis qu'IFT80 n'est muté que dans 7% des cas et dans 30% des cas un ou plusieurs gènes restent à identifier. La présence d'une seule mutation hétérozygote dans DYNC2H1 ou IFT80 pour 6 familles non consanguines, suggère la possibilité d'un digénisme. La poursuite de ce travail est primordiale afin d'identifier de nouveaux gènes responsables de la DTJ et une meilleure connaissance des corrélations phénotype-génotype pourra guider les études moléculaires afin de proposer un diagnostic prénatal.

session simultanée 1
Thème 1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

UNE MUTATION DE LA SOUS-UNITE MED23 DU COMPLEXE MEDIATEUR LIE ANOMALIE D'EXPRESSION DES GENES PRECOCES ET DEFICIENCE INTELLECTUELLE.

S HASHIMOTO (1), S BOISSEL (2), K SIQUIER-PERNET (2), M ZARHRATE (2), M RIO (2), A MUNNICH (2), JM EGLY (1), L COLLEAUX (2)

1. Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, IGBMC, Illkirch, France
2. INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France

La déficience intellectuelle (DI) est définie comme «un fonctionnement intellectuel significativement inférieur à la moyenne associé à des limitations des fonctions adaptatives» (DSM-IV). 25% des cas de DI non syndromique (DINS), ou le déficit intellectuel est le seul signe clinique observé, s'expliquent par un mode de transmission autosomique récessif (AR). Cependant, l'extrême hétérogénéité clinique et la taille souvent trop restreinte des fratries a longtemps freiné l'identification des gènes responsables de DIAR.

Nous avons eu l'opportunité d'étudier une famille consanguine algérienne dans laquelle 5 enfants atteints présentent une DINS. Mettant à profit la stratégie de cartographie par autozygotie, nous avons identifié une variation homozygote dans le gène MED23 (p.R6117Q). Cette variation co-ségrége avec la maladie, n'a pas été retrouvée chez 608 chromosomes contrôles et altère un acide aminé conservé chez tous les orthologues de MED23.

MED23 code une des sous-unités du Médiateur (MED). Ce large complexe multiprotéique est un élément clef de la machinerie générale de transcription et sert d'interface dynamique entre les facteurs de transcription gène-spécifiques et la machinerie générale de transcription (Ryu et al, Nature, 1999). De façon très intéressante, des mutations faux sens d'une autre sous unité (MED12) sont responsables de deux DI syndromiques liées à l'X : les syndromes de Opitz-Kaveggia (Risheg et al, Nature genetics, 2007) et de Lujan (Schwartz et al, Journal of Medical genetics, 2007).

Nous avons observé que les cellules de patients porteurs de la mutation MED23 présentent un défaut de régulation d'un nombre très restreint de gènes parmi lesquels les gènes « précoces » JUN et FOS. Ces derniers commandent l'expression d'une cascade de gènes impliqués dans diverses fonctions cellulaires notamment au cours du développement système nerveux central. De plus, leur activation rapide et transitoire est une étape clé de la plasticité cérébrale. Nos travaux démontrent que cette dérégulation est la conséquence d'un défaut d'interaction entre la protéine MED23 et des activateurs spécifiques des deux gènes considérés.

Enfin, nous avons démontré que les cellules de patients DI liés à des mutations d'autres gènes, également impliqués dans la régulation transcriptionnelle, présentent une anomalie d'expression des gènes JUN et FOS similaire à celle observée dans les cellules de patients MED23.

En conclusion, nos résultats confirment le rôle du complexe MED et plus généralement des anomalies de la régulation transcriptionnelle dans l'étiologie des déficiences intellectuelles. De plus, nos données suggèrent qu'une anomalie d'expression des gènes précoces puissent être une "signature moléculaire" de ce trouble (Hashimoto et al, Science 2011).

session simultanée 1
Thème 1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

ANALYSE CLINIQUE ET MOLECULAIRE D'UNE SERIE DE 75 PATIENTS AVEC SYNDROME KABUKI.

D Geneviève (1), D Sanlaville (2), C Michot (3), S Poisson (3), E sanchez (1), E Alix (2), H Kayirangwa (3), C Baumann (4), A Toutain (5), N Philip (6), M Holder (7), L Faivre (8), S Odent (9), MA Delrue (10), M Till (2), MP Cordier (2), ML Jacquemont (11), A Goldenberg (12), D Lacombe (10), B Gilbert-Dussardier (13), J Roume (14), A Jacquette (15), A Moncla (6), M Willems (1), L Pinson (1), M Le Merrer (3), V Cormier-Daire (3), P Sarda (1), A Pelet (3), KH Le Quan Sang (3), J Amiel (3), S Lyonnet (3)

1. Département de Génétique Médicale, CHRU Montpellier, Université Montpellier 1, Unité Inserm U844, CLAD Montpellier, Montpellier, France
2. Département de cytogénétique, Hospices civil de Lyon, Centre des neurosciences, Tiger, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France
3. Département de Génétique, Unité Inserm U781, Hôpital Necker enfants Malades, CLAD Paris, Paris, France
4. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, CLAD Paris, Paris, France
5. Service de Génétique, Hôpital Bretonneau, CLAD Tours, Tours, France
6. Département de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone, CLAD Marseille, Marseille, France
7. Service de Génétique Clinique,, Hôpital Jeanne de Flandre, CLAD Lille, Lille, France
8. Centre de Génétique, Hôpital d'enfant, CLAD Dijon, Dijon, France
9. Service de Génétique médicale, Hôpital Sud, CLAD Rennes, Rennes, France
10. Service de Génétique, Hôpital Pellegrin, CLAD Bordeaux, Bordeaux, France
11. Service de Génétique, Hôpital saint Pierre, GH Sud Réunion, Ile de la Réunion, Saint-Pierre, France
12. Service de Génétique, Hôpital Charles Nicole, CHU de Rouen,, Rouen, France
13. Service de Génétique, CHU La Milétrie, Poitiers, France
14. Service de génétique, Hôpital Poissy-saint Germain, Poissy, France
15. Département de génétique, Hôpital de la Pitié-Salpétrière, CLAD Paris, Paris, France

Le syndrome Kabuki (SK) ou syndrome de Niikawa-Kuroki est caractérisé par un syndrome polymalformatif associé à un déficit intellectuel (DI). Il a été décrit pour la première fois en 1981. L'incidence de la pathologie est mal connue. Elle est estimée à 1 naissance pour 35000 environ. Niikawa et Kuroki ont décrit 5 critères cardinaux comprenant des variations morphologiques du visage caractéristiques permettant le diagnostic, un retard de croissance pré ou plus souvent post natal, un DI (le plus souvent modéré à léger), des anomalies orthopédiques (le plus souvent une scoliose), des anomalies dermatoglyphiques et la persistance de l'aspect fœtal de la pulpe des doigts (ou « fœtal finger pads ») Récemment, Ng et collaborateurs, en utilisant une stratégie d'identification de gène par exome sequencing ont identifié des mutations hétérozygotes de novo dans le gène MLL2 chez 70% environ des patients avec SK. Nous rapportons ici, l'étude du gène MLL2 dans une cohorte française via le réseau français du syndrome Kabuki (RFSK - PHRC AOM 07-090). Nous avons recruté 100 patients avec syndrome Kabuki confirmés par le RFSK et étudié totalement le gène MLL2 chez 75 patients. Tous les cas sont sporadiques sauf pour une famille avec une mère et ses 2 enfants atteints. Les mutations sont réparties sur l'ensemble du génome avec cependant 2 "hot spots" sur les exons 48 et 39. Nous avons identifié tous types de mutations chez 58 patients (soit 77% de la cohorte; mutations stop n=18, 24%; décalage du cadre de lecture avec stop prématuré n=23, 30%; anomalies d'épissage n=2, 3%; mutation faux sens n=12, 16%; et délétions/duplications avec ou sans conservation du cadre de lecture n=3, 4%). Nous avons tenté d'établir des corrélations génotypes phénotypes. Nous avons identifié que les patients avec mutations dans le gène MLL2 ont plus souvent des malformations cardiovasculaire que les patients sans mutations. Les données de la littérature retrouvent une association statistique avec le RCIU et les malformations rénales. Enfin, nous avons retrouvé statistiquement plus de mutations d'épissage dans le déficit intellectuel et de mutations faux sens ainsi que de décalage du cadre de lecture chez les patients avec surdité que la répartition observée dans la population générale. Nous avons également repris l'ensemble des données moléculaire concernant les 4 cohortes de patients avec étude du gène MLL2 décrites dans la littérature. Le pourcentage de patients avec mutations dans le

gène MLL2 est d'environ 70% (allant de 57 à 76%). Nous avons identifié que les mutations faux sens sont particulièrement localisées dans les exons 15 et 48. Enfin, nous avons identifié un nouveau symptôme clinique nous apparaissant spécifiques du SK et qui peux aider le clinicien à poser le diagnostic de SK.

session simultanée 1
Thème 1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

IDENTIFICATION DE MUTATIONS DU GENE POLR3A A L'ORIGINE DE LEUCODYSTROPHIES HYPOMYELINISANTES A TRANSMISSION AUTOSOMIQUE RECESSIVE.

O Boespflug-Tanguy (1), E Chouery (2), V Delague (3), I Dorboz (1), N Jalkh (2), N Lévy (3), A Mégarbané (2), D Rodriguez (4), N Salem (2)

1. Service de Neurologie Pédiatrique et des Maladies Métaboliques,, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. Unité de Génétique Médicale, Université Saint Joseph, Beyrouth, Liban
3. INSERM UMR 910, « Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle », Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France
4. Service de neuro-pédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris, France

Les leucodystrophies représentent un groupe de maladies héréditaires très hétérogènes, qui affectent la substance blanche, composée principalement de la myéline. Plus d'une centaine de formes sont aujourd'hui décrites.

Il y a près de 10 ans, nous avions décrit, dans une grande famille consanguine d'origine syrienne, une nouvelle forme de leucodystrophie associant une diminution de la myélinisation à l'IRM cérébrale et une absence de certaines dents (LO) (Atrouni et al., 2001). Quelques années plus tard, d'autres familles présentant des signes cliniques supplémentaires, en particulier un retard pubertaire, ont été rapportées. Une étude de liaison par génotypage de SNPs, dans la grande famille consanguine, a permis de localiser le gène morbide sur le chromosome 10q22 (lod scores=5.66 ; NPL score = 7.65), au niveau d'une région de 8,7 cM contenant 95 gènes. Une stratégie de criblage de gènes candidats dans la région a permis d'identifier POLR3A comme gène responsable de la maladie. POLR3A code pour la plus grosse sous-unité de l'ARN polymérase III humaine, impliquée dans la transcription de petits ARN essentiels pour la synthèse des protéines. L'analyse de plusieurs autres familles a permis de montrer que des mutations dans POLR3A étaient responsables, en sus de la leucodystrophie avec oligodontie (LO) décrite par nous-même (OMIM 607694), de 2 autres formes cliniques de leucodystrophies transmises sur le mode autosomique récessif : le syndrome de tremblements-ataxie et hypomyélinisation centrale (TAHC), décrit chez des sujets du Québec, et le syndrome 4H pour Hypomyélinisation, Hypodontie et Hypogonadisme Hypogonadotropique (OMIM 607694).

session simultanée 1
Thème 1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

ALTERATIONS OF THE MELATONIN PATHWAY AS A SUSCEPTIBILITY FACTOR TO AUTISM

T Bourgeron (1), J Callebert (1), P Chaste (1), R Delorme (1), F Fauchereau (1), H Goubran-Botros (1), E Herbrecht (1), G Huguet (1), JM Launay (1), M Leboyer (1), N Lemiere (1), C Pagan (1)

1. Laboratoire GHFC, Institut Pasteur, Paris, France

Melatonin is a neurohormone synthesized in the dark by the pineal gland from serotonin. It is involved in the regulation of circadian rhythms, of metabolism and has antioxidant and neuroprotective properties. Low melatonin levels have been reported in patients with autism in several independent studies. Here we confirm the melatonin deficit in 200 patients with autism and their relatives. We show that melatonin deficit – observed in 60 percent of patients – is strongly correlated with low activity of ASMT, the last enzyme of melatonin synthesis. Exploration of the mechanisms of melatonin deficit involves identification of loss-of-function mutations in ASMT gene in a small number of patients, as well as a partial duplication of the gene, found significantly more frequently in patients with autism than in the general population. Furthermore, ASMT mRNA levels are significanlty reduced when quantified in blood cells of patients compared to controls, suggesting abnormal transcriptional or post-transcriptional regulation of ASMT. Melatonin deficit is associated with specific clinical features in patients, especially stereotyped behaviors. The melatonin pathway is a new therapeutic target in autism, frequently associated with sleep disorders - several clinical trials have reported a good efficiency of melatonin treatment for autism-associated sleep disorders.

session simultanée 1
Thème 1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

LES MUTATIONS DE CYP7B1/SPG5 DANS LES PARAPLEGIES SPASTIQUES HEREDITAIRES SPORADIQUES

J Lavie (1), J Pilliod (1), CM Durand (1), A Durr (1), S Forlani (2), PJ Babin (3), A Tingaud-Sequeira (1), A Knoll-Gellida (1), M André (1), B Arveiler (1), D Lacombe (1), A Brice (2), G Stevanin (2), I Coupry (1), C Goizet (1)

1. Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme (MRGM), EA4576, Université Bordeaux, Bordeaux, France
2. INSERM, UPMC U679, ICM, Hopital de la Salpétrière, Paris, France
3. Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme (MRGM), EA4576, Université Bordeaux, Université Bordeaux, France

Fifty different loci for hereditary spastic paraplegia (HSP) have been mapped, 24 in autosomal recessive spastic paraplegias (AR-HSP). AR-HSPs usually have clinically complex phenotypes but the SPG5, SPG24 and SPG28 loci are considered to be associated with “pure” forms of the disease. Recently, mutations in the CYP7B1 gene, encoding for a cytochrome P450 oxysterol 7-α hydroxylase, have been identified in SPG5 families. Most mutations are truncating but missenses are not so rare.

We analyzed CYP7B1 by direct sequencing in a series of 250 unrelated sporadic HSP patients, with a pure or complex form of the disease. We identified 8 different mutations in 6 index cases including 4 missense and 4 nonsense mutations. The missense mutations were absent from 494 control chromosomes. We developed a cell model in order to determine the deleterious effect of such missense mutations. HEK293T cells were transfected with wild type and mutated human CYP7B1 to be over expressed. After incubation with different substrates, mass spectrometry was used to evaluate the enzymatic activity of missenses.

session simultanée 1
Thème 1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

DES MUTATIONS DU GENE TRDN SONT ASSOCIEES A UNE FORME AUTOSOMIQUE RECESSIVE DE TACHYCARDIE VENTRICULAIRE POLYMORPHE CATECHOLAMINERGIQUE

N Roux-Buisson (1), M Cacheux (2), A Fourest-Lieuvin (2), J Fauconnier (3), J Fauré (1), A Lacampagne (3), I Marty (2), J Lunardi (1)

1. Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU de Grenoble, Grenoble, France
2. Equipe Muscle et Pathologies, Unité Inserm U836, Grenoble, France
3. Equipe Inserm, Unité Inserm U1046, Montpellier, France

La Tachycardie Ventriculaire Polymorphe Catécholaminergique est une pathologie arythmogène héréditaire rare responsable de mort subite chez l'enfant et l'adulte jeune. A ce jour, des mutations de deux gènes impliqués dans l'homéostasie calcique cardiaque sont rapportées dans la TVPC : mutations du gène RYR2 codant pour le récepteur de la ryanodine de type 2 dans des formes de transmission autosomique dominante, et plus rarement mutations du gène CASQ2 codant pour la calséquestrine de type 2, associées à un mode de transmission autosomique récessif. Le canal calcique RyR2 et la protéine chélatrice du calcium Casq2 sont deux protéines du réticulum sarcoplasmique jonctionnel (RSj) qui jouent un rôle central dans la libération de calcium intracellulaire lors de la contraction cardiaque. Dans un tiers des cas de TVPC, aucune mutation n'est identifiée. En nous basant sur une approche gène candidat, nous avons recherché des mutations de la triadine et de la junctine, qui sont des protéines partenaires de RyR2 et Casq2 au sein du complexe de relâchement calcique (CRC) du RS. Après avoir analysé 97 probands ayant présenté une TVPC, nous n'avons retrouvé aucune mutation de la junctine. En revanche, nous avons identifié trois mutations de la triadine au sein de deux familles. Une délétion homozygote de 4 nucléotides a été trouvée chez le proband de la première famille. Dans la seconde famille, les deux individus atteints présentaient un variant non sens associé à un variant faux-sens à l'état hétérozygote composite. Les études familiales de ségrégation des variants ont mis en évidence une transmission autosomique récessive de la pathologie. La caractérisation fonctionnelle de la mutation faux-sens à l'aide d'un modèle cellulaire a permis de mettre en évidence une dégradation massive de la protéine mutée. Les études après transduction in vivo du cDNA de la protéine mutée dans un modèle de souris knock-out triadine ont montré que la protéine mutée était indétectable malgré la présence du transcrit correspondant. En revanche, l'expression in vivo de la protéine sauvage dans le même modèle murin permettait une réexpression de la protéine avec une localisation physiologique au sein du CRC. Nous rapportons, à notre connaissance pour la première fois, des mutations du gène de la triadine (TRDN) en pathologie humaine. Les mutations du gène TRDN, impliquées ici dans une forme autosomique récessive de TVPC, sont associées à une absence de protéine fonctionnelle entraînant très probablement des anomalies de libération du calcium lors de la contraction cardiaque, à l'origine des arythmies observées.

session simultanée 1
Thème 1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

UN NOUVEAU GENE RESPONSABLE D'UNE ICHTYOSE HUMAINE IDENTIFIE GRACE AU MODELE CANIN.
A NEW HUMAN ICHTHYOSIS GENE REVEALED BY A MUTATION IN THE GOLDEN RETRIEVER CANINE BREED.

A GRALL (1), E GUAGUERE (2), S PLANCHAIS (1), S GROND (3), E BOURRAT (4), I HAUSSER (5), C HITTE (1), M LE GALLO (1), C DERBOIS (6), K GWANG-JIN (7), L LAGOUTTE (1), F DEGORCE-RUBIALES (8), FPW RADNER (3), A THOMAS (9), S KURY (10), E BENSIGNOR (11), J FONTAINE (12), D PIN (13), R ZIMMERMANN (14), R ZECHNER (14), M LATHROP (6), F GALIBERT (1), C ANDRE (1), J FISCHER (15)

1. CNRS, UMR 6061, Institut de Génétique et Développement de Rennes, Université Rennes 1, UEB, IFR140, Faculté de Médecine, RENNES, France
2. Clinique Vétérinaire Saint Bernard, 598 avenue de Dunkerque, LOMME, France
3. Institute of Molecular Biosciences, Karl-Franzens-Universität Graz, GRAZ, Autriche
4. Département de dermatologie, Hôpital St Louis, PARIS, France
5. Department of Dermatology, University Clinic Heidelberg and Electron Microscopy Core Facility University Heidelberg, HEIDELBERG, Allemagne
6. CEA, Institut de Génomique, Centre National de Génotypage, EVRY, France
7. Institute for Human Genetics, University Clinic Freiburg, Faculty for Biology, University of Freiburg, FREIBURG, Allemagne
8. 10Laboratoire d'Anatomie Pathologique Vétérinaire du Sud-Ouest, LAPVSO, TOULOUSE, France
9. Animal Genetics Laboratory, ANTAGENE, LIMONEST, France
10. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, NANTES, France
11. Clinique Vétérinaire de la Boulais, 6 rue mare pavée, CESSON-SEVIGNE, France
12. Clinique Vétérinaire, Avenue BRUGMANN, 425 B-1180 UCCLE, BRUXELLES, Belgique
13. Unité de dermatologie, VetAgro Sup Campus Vétérinaire de Lyon, MARCY L'ETOILE, France
14. Institute of Molecular Biosciences, Karl-Franzens-Universität Graz, GRAZ, Allemagne
15. Zentrum für Biosystemanalyse ZBSA, University of Freiburg, FREIBURG, Allemagne

Due to the unique history of dog breeds, the proximity between dog and human lifestyle, their comparable physiology and their shared genetic diseases, dog constitutes a unique species to unravel the phenotype/genotype relationships and to provide new insights into human genetic diseases. Ichthyoses, a heterogeneous group of genodermatoses, characterized by abnormal desquamation over the whole body, is an excellent example. Indeed, while in humans, more than 30 genes have already been identified, the genetic causes of several forms still remain unknown. Strikingly, several purebred dogs are also affected by specific forms of ichthyoses and known genes have been involved: the Norfolk terrier presents a mild recessive epidermolytic hyperkeratosis, due to a splice-site mutation in the Keratin 10 gene; the Jack Russell terrier presents a severe non-epidermolytic ichthyosis, due to a LINE 1 insertion in the TGM1 gene; several other dog breeds are also affected by particular forms, providing opportunities to identify novel genes. In the golden retriever dog breed, a high incidence of an autosomal recessive form of ichthyosis, resembling human autosomal recessive congenital ichthyoses (ARCI), has been diagnosed and cases collected. We first characterized the disease and carried out a genome-wide association study (GWAS) on 40 unrelated golden retriever dogs (20 cases and 20 controls), using the canine 49,000 SNPs array (Affymetrix v2). The statistical analysis demonstrated a significant associated locus and sequencing candidate genes revealed an exonic indel recessive mutation leading to a premature stop codon in the PNPLA1 gene (Patatin-like phospholipase domain-containing protein). This gene belongs to an interesting family of lipases with diverse functions, one of which, PNPLA2, is responsible for a Neutral Lipid Storage Disease without ichthyosis. While the PNPLA1 gene was annotated in the canine and human genomes, its function was yet unknown. Searching for alterations in the ortholog human gene in 10 ARCI families, for which no genetic cause has been identified so far, allowed to identify two recessive mutations in the catalytic domain of the PNPLA1 protein in two families. This research on ichthyosis affected dogs from the Golden retriever breed allowed to identify, in

humans, an eighth gene for ARCI. In addition, further morphological and biochemical investigations (histopathology, electron and confocal microscopy, gene transcript and protein expression experiments, cell cultures and lipid profiles…) permitted to highlight the function of this yet unknown gene product in the lipid metabolism of the skin barrier. This work paves the way to the identification of other human rare gene variants, responsible of ichthyoses or other skin diseases, unfortunately concentrated in dog breeds due to the selection and breeding practices applied to purebred dogs.

session simultanée 2
Thème 2.Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

MICRODUPLICATIONS 22Q11 : A PROPOS DE 14 NOUVEAUX CAS

J Andrieux (1), A Dieux-Coeslier (2), M Holder (2), S Manouvrier (2), F Petit (2), C Vincent-Delorme (3)

1. Laboratoires de Génétique, Hopital Jeanne de Flandre CHRU, Lille, France
2. CLAD Nord de France, Hopital Jeanne de Flandre CHRU, Lille, France
3. CLAD Nord de France, CH Arras/ Hopital Jeanne de Flandre CHRU, Arras/Lille, France

Les réarrangements de la région 22q11.2 sont parmi les plus fréquents des réarrangements chromosomiques. Ils apparaissent, par recombinaison homologue non allélique, dans une région riche en LCR (low copy repeat). Leur mécanisme de survenue devrait conduire à une fréquence égale observée de microdélétions et de microduplications. Cependant la microdélétion (dont les manifestations cliniques, le pronostic, et la prise en charge sont bien codifiés) fréquemment recherchée et identifiée contraste avec la microduplication, sous diagnostiquée.

L'émergence des nouvelles techniques de détection d'anomalies chromosomiques de petite taille conduit à la mettre en évidence plus souvent désormais.

3 tailles différentes de microduplications 22q11.2 sont décrites : 3 Mb, la plus fréquente, 6 Mb, et 1,5 Mb.

Toutefois semble apparaître une grande hétérogénéité quant à l'expression phénotypique, et ce, quelque soit l'étendue de ce remaniement, incitant à une grande prudence quant aux conduites à tenir, notamment, en matière de diagnostic prénatal.

Nous rapportons 14 nouvelles observations (8 enfants, 4 adultes, 2 fœtus) de microduplications 22q11.2, dont 3 formes héritées. Seules 3 d'entre elles ont été recherchées par FISH pour des tableaux cliniques évocateurs de microdélétions 22q11. Pour 9 autres cas, il s'agit de résultats de CGH array 44 k, dont l'indication avait été portée, soit en raison d'un RM, souvent discret, volontiers associé à des troubles du comportement, et parfois une légère dysmorphie (pour 5 patients), soit dans le cadre de l'exploration d'un syndrome polymalformatif (4 patients). L'étude parentale, lorsqu'elle a pu être menée, ce qui est rare, nous a conduits à identifier, 2 mères asymptomatiques. En effet, parmi les 8 enfants testés, 4 étaient placés. A ce titre, peut se poser la question de carences éducatives, qui pourraient témoigner de formes héritées, pourtant symptomatiques, non diagnostiquées, à l'origine de ces placements.

Le poids que représentera prochainement cette anomalie (dont la découverte peut, on le voit bien, être tout à fait fortuite), au sein de toutes les aberrations chromosomiques, devrait nous conduire à une réflexion plus consensuelle. Le pronostic prévisible pourrait probablement être modulé, au vue du mode de recrutement, rapidement évolutif de ces patients.

session simultanée 2
Thème 2.Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

MISE EN PLACE DE LA CGH ARRAY EN PREMIERE INTENTION CHEZ LES PATIENTS PRESENTANT UNE DEFICIENCE INTELLECTUELLE ET/OU DES MALFORMATIONS CONGENITALES ET/OU DES TROUBLES AUTISTIQUES.

V Malan (1), JM Lapierre (1), MC de Blois (1), C Ozilou (2), S Nusbaum (1), O Raoul (1), M Le Merrer (3), A Harroche (3), G Baujat (3), M Rio (3), J Amiel (3), S Lyonnet (3), V Cormier-Daire (3), A Munnich (3), M Vekemans (1), S Romana (1)

1. Service de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Service de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, Finlande
3. Service de Génétique Clinique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Le caryotype a été pendant longtemps le seul examen permettant une étude globale du génome avec une résolution de l'ordre de 5-10 Mb. Actuellement, la CGH array a supplanté le caryotype en doublant le nombre d'anomalies chromosomiques décelées chez les patients avec une déficience intellectuelle et/ou un syndrome polymalformatif. Cette technique offre l'avantage d'être un examen automatisable permettant une meilleure fiabilité et reproductibilité des résultats. Contrairement au caryotype, elle permet de s'affranchir d'une analyse morphologique des chromosomes. De plus, un plus grand nombre de patients peut être étudié en raison du gain de temps technique et d'analyse.

Afin de transférer cet examen en routine, nous avons, au sein du service de cytogénétique de l'hôpital Necker-Enfants Malades, totalement automatisé les différentes étapes de la CGH array et de la vérification par FISH des anomalies détectées. La plateforme est équipée d'un automate « pipettor » (Tecan Group. Ltd) couplé à un lecteur code à barre et à un fluorimètre et d'un scanner Agilent (G2565CA). Par ailleurs, nous disposons d'une banque de 900 000 clones pour effectuer les vérifications FISH des anomalies détectées. L'équipe technique et médicale qui assure la gestion de la plateforme est composée de deux médecins, de deux techniciens et d'un ingénieur.

Depuis avril 2011, tous les patients vus en consultation de génétique médicale et présentant une déficience intellectuelle syndromique ou isolée et/ou des troubles autistiques et/ou des malformations congénitales bénéficient d'une étude du génome par CGH array en première intention. Le caryotype et la FISH ciblée ne sont réalisés, en première intention, que chez les patients ayant un phénotype évocateur d'une pathologie connue (trisomie 21, syndrome de Williams..).

A ce jour, chez les 500 patients testés, l'étude globale du génome par CGH array en première intention nous a permis de détecter 14% de déséquilibres génomiques considérés comme causales soit 3 % d'anomalies qui auraient été vus sur le caryotype, plus 11% d'anomalies cryptiques, détectées uniquement par CGH array. Le seuil de détection d'une anomalie a été fixé à 400 kb (normes internationales) pour diminuer la détection des CNV bénins.

Outre l'augmentation attendue de l'efficience de l'examen cytogénétique, ce changement de pratique a induit une véritable rupture dans l'organisation de notre service de cytogénétique ainsi que dans les métiers de la cytogénétique qu'ils soient technique ou médicale. De techniques complémentaires au caryotype, les méthodes moléculaires d'étude des anomalies de structure du génome sont aujourd'hui le cœur même du service de cytogénétique. Cela nous oblige à redéfinir la formation des techniciens ainsi que celles des médecins du service qui deviennent aujourd'hui des « internistes » de la pathologie génomique.

session simultanée 2
Thème 2.Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

VALIDITE CLINIQUE DU CARYOTYPE SUITE A UNE HYBRIDATION GENOMIQUE COMPARATIVE (CGH) POUR LE DIAGNOSTIC DE DESEQUILIBRE CHROMOSOMIQUE.

J Gekas (1), M Vallée (1), L Castonguay (1), R Laframboise (1), B Maranda (1), B Piedboeuf (2), F Rousseau (3)

1. Service de Génétique Médicale, CHUQ, Hôpital Saint-François d'Assise, Québec, Canada
2. Département de pédiatrie, CHUQ, Hôpital Saint-François d'Assise, Québec, Canada
3. Service de Biochimie, CHUQ, Hôpital Saint-François d'Assise, Québec, Canada

L'hybridation génomique comparative (CGH) représente une avancée majeure dans la capacité de détection des déséquilibres chromosomiques (DC). Une étude récente recommande l'utilisation du CGH en première intention plutôt qu'un caryotype chez les patients présentant une déficience inexpliquée. Cependant, la décision de privilégier une analyse plutôt qu'une autre doit être fondée sur de solides preuves en raison des implications majeures qu'implique la sélection d'un outil privilégié de diagnostic. Une étude prospective de 376 patients a été réalisée pour évaluer la pertinence du caryotype suite au CGH chez les patients présentant une déficience inexpliquée. Nos résultats démontrent que le CGH a détecté un DC dans 28.7% des cas. Une analyse du caryotype a été effectuée chez 288 patients et de ceux-ci 69.8% (201/288) démontrent des résultats similaires entre le CGH et le caryotype. Pour les patients avec un DC détecté par CGH, 7.9% (7/89) présentent un résultat similaire au caryotype. Parmi les 20 patients avec un résultat de caryotype anormal, 13 présentent un résultat de CGH différent : 4 patients (1.4%) avec un réarrangement équilibré et 9 patients (3.1%) avec un DC supplémentaire non-détecté au CGH. Le taux de détection du caryotype est de loin supérieur à la prévalence précédemment estimée de 0.5-0.78% et affecte 10.1% (9/89) des patients avec un DC détecté par CGH dans la population testée. Puisque la signification clinique des DC identifiés au CGH peut être précisée par le résultat du caryotype, ce dernier influence le diagnostic clinique et le conseil génétique. Il est proposé que chaque laboratoire de génétique évalue la pertinence du caryotype suite au CGH afin d'inclure l'aspect chromosomique aux résultats de CGH.

session simultanée 2
Thème 2.Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

MICRODUPLICATION INTERSTITIELLE DE LA REGION XQ27.2-XQ28 ENGLOBANT LE GENE FMR1: DESCRIPTION D'UNE NOUVELLE FAMILLE ET ANALYSE DU MECANISME DE RECOMBINAISON MEIOTIQUE

C MISSIRIAN (1), E MOREAU (2), C POPOVICI (1), T BUSA (2), P CACCIAGLI (3), A MONCLA (1), L VILLARD (3), A DE SANDRE-GIOVANNOLI (4), N PHILIP (2)

1. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Département de Génétique Médicale, CHU Timone enfants, Marseille, France
2. Unité de Génétique Clinique, Département de Génétique Médicale, CHU Timone enfants, Marseille, France
3. Inserm UMR_S 910, Faculté de Médecine de La Timone, Marseille, France
4. Laboratoire de Biologie Moléculaire, Département de Génétique Médicale, CHU Timone enfants, Marseille, France

L'expansion des triplets associée à une hyperméthylation dans la région 5' du gène FMR1 codant pour une protéine RNA-binding (FMRP) est le principal mécanisme moléculaire responsable du syndrome de l'X fragile. Les mutations ponctuelles et les microréarrangements de ce gène (microdélétions, microduplications) sont des mécanismes exceptionnellement rapportés.

Nous décrivons les données cliniques et moléculaires d'une famille sur 3 générations présentant une microduplication interstitielle du bras long du chromosome X, englobant le gène FMR1. Les 3 garçons atteints dans la génération III, âgés de 6, 8 et 9 ans, présentent un tableau clinique sensiblement identique principalement marqué par un retard de langage, des difficultés d'apprentissage scolaires, des troubles du comportement avec une instabilité et une intolérance aux frustrations alimentaires, une microcéphalie (-2DS), une obésité, la croissance étant dans la moyenne. La dysmorphie faciale est discrète : les narines sont antéversées, et les oreilles sont de grande taille et mal ourlées. Les acquisitions motrices sont réalisées avec un léger décalage. Chez l'adulte atteint de la génération II, le retard mental reste modéré permettant une activité professionnelle en milieu protégé, l'obésité est persistante, sans hypogonadisme. Le caryotype moléculaire de ces patients réalisé sur une plateforme Agilent 180K met en évidence une duplication interstitielle de 6,8 Mb de la région Xq27.2-Xq28 confirmée par FISH et correspondant à une duplication intrachromosomique.

Nous avons étudié sa transmission, montrant la survenue de plusieurs recombinaisons méiotiques au fil des générations. Notre famille illustre enfin les limites de l'interprétation de la détermination du nombre de triplets CGG par la technique de PCR.

A ce jour sont rapportées dans la littérature deux familles présentant une microduplication interstitielle de la région Xq27.3-Xq28, englobant le gène FMR1 (Gijsbers ACJ et al, Clin genet 2011 ; Rio M. et al., Eur J Hum Genet, 2010). Nous comparerons nos données cliniques et moléculaires aux cas précédemment décrits.

session simultanée 2
Thème 2.Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

ETUDE CYTOGENETIQUE COMPARATIVE DE LA TAILLE DES TELOMERES POUR DES PERSONNES PORTEUSES DE TRISOMIE 21 ATTEINTES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER PAR RAPPORT A DEUX GROUPES TEMOINS

G EGEA (1), B DE FREMINVILLE (2), RL TOURAINE (2), F PRIEUR (2)

1. Service de Génétique clinique, chromosomique et moléculaire, CHU Saint Etienne, SAINT ETIENNE, France
2. Service de Génétique clinique, chromosomique et moléculaire, CHU SAINT ETIENNE, SAINT ETIENNE, France

La trisomie 21 étant la plus fréquente des anomalies chromosomiques impliquée dans le retard mental, de nombreuses études sont menées dans l'espoir de diminuer la déficience mentale ainsi que les complications associées. Une de ces complications qui intéresse les chercheurs et les cliniciens est l'apparition précoce de la démence de type Alzheimer. Il s'agit d'une pathologie particulièrement difficile à mettre en évidence chez les individus porteurs de la trisomie 21. L'enjeu actuel dans la prise en charge de la trisomie 21 est donc de détecter le plus tôt possible l'apparition de cette démence, afin de mettre en place un traitement adapté, au moment où les dommages du système nerveux central provoqués par cette pathologie pourraient être minimisés.

C'est dans ce cadre que la taille des télomères a été étudiée chez les individus porteurs d'une trisomie 21, développant une démence. Différentes méthodes pour mesurer la taille des télomères sont disponibles, mais nous avons opté pour une technique cytogénétique, la PNA-FISH. Cette dernière nécessite l'utilisation d'un kit commercial DAKO®« Telomere PNA FISH/FITC ». En effet, l'étude réalisée par Jenkins (Jenkins et al., 2010) a montré l'existence d'une nette réduction des télomères chez les individus trisomiques 21 développant une démence en comparaison des individus trisomique 21 ne présentant pas de démence. Mise à part pour le chromosome 21, les résultats obtenus dans notre étude ne révèlent pas de différence significative entre le groupe des individus trisomiques 21 développant une démence et les deux autres groupes ne présentant de démence. Nous sommes intrigués par le fait que cette différence porte justement, uniquement sur le chromosome 21. Ce résultat confirme donc l'observation faite par Jenkins, à savoir une réduction nette de la taille des télomères des chromosomes 21 chez les individus trisomiques 21 développant une démence. Au regard de nos résultats et ceux de Jenkins, la mesure de la taille des télomères des chromosomes 21 seulement chez les trisomiques 21 pourrait être envisagée comme un biomarqueur de la démence de type Alzheimer chez les personnes porteuses de la trisomie 21. Dans ce cas, l'utilisation de la PNA-FISH, a priori reproductible, semble être plus particulièrement adaptée. La principale limite correspond au coût actuel de cette technique, le temps global (technique et observation) représente un deuxième facteur limitant.

Enfin, comme Jenkins, nous sommes intrigués par le fait que la réduction de taille des télomères concerne surtout le chromosome 21 pour les patients porteurs de trisomie 21 et atteints de démence. L'étude d'un nombre plus important de patients est nécessaire mais la possibilité d'une coïncidence nous paraît moindre, vu nos résultats, comme si l'effet d'un surdosage génique avait un rôle spécifique sur le mécanisme de contrôle de la longueur des télomères de ce chromosome, indépendamment des autres.

session simultanée 2
Thème 2.Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

FORME FAMILIALE D'OSTEOGENESE IMPARFAITE SYNDROMIQUE ASSOCIEE A UN MICROREMANIEMENT CHROMOSOMIQUE COMPLEXE : DELETION 17Q21.33-17Q22 ET DUPLICATION7Q32.3-7Q33.

R HARBUZ (1), F BILAN (2), D COUET (1), V CHARRAUD (3), A KITZIS (3), B GILBERT-DUSSARDIER (1)

1. Service de Génétique, Centre de Référence Anomalies du Développement Ouest, CHU de Poitiers, Poitiers, France
2. Service de Génétique, Centre de Référence Anomalies du Développement Ouest; Plate-forme Génome UP, UMR CNRS 6187 et Université de Poitiers, CHU de Poitiers, Poitiers, Gabon
3. Service de Génétique, Centre de Référence Anomalies du Développement Ouest; Plate-forme Génome UP, UMR CNRS 6187 et Université de Poitiers, CHU de Poitiers, Poitiers, France

(Familial case of syndromic osteogenesis imperfecta caused by complex chromosomal rearrangement: 17q21.33-17q22 deletion and 7q32.3-7q33 duplication.)

Le cas index, une femme de 22 ans, et son oncle maternel présentent le même syndrome clinique associant ostéogénèse imparfaite typique, retard mental sévère, dysmorphie avec visage allongé, front large, sourcils arqués, enophtalmie, nez long et étroit avec racine proéminente, narines étroites et cheveux frisés, ce dernier caractère n'étant retrouvé chez aucun autre membre de la famille. Cette association ne correspond à aucun syndrome décrit. Les caryotypes standards sont normaux. L'examen en CGH-array retrouve chez les 2 patients une délétion de 3,4Mb en 17q21.33-17q22 et une duplication de 3Mb en 7q32.3-7q33.

La vérification par FISH confirme la délétion interstitielle en 17q, à l'endroit où s'est inséré un segment du chromosome 7 :

46,XX.ishder(17)del(17)(q21.33q22)(RP11-379D19)ins(17;7)(q21.33;q32.3q33)(RP11-372E15+)mat.arr7q32.3q33(130,759,740-133,796,377)x3,17q21.33q22(44,909,862-48,312,957)x1.

La mère du cas index, de phénotype normal, présente un réarrangement chromosomique équilibré de type translocation réciproque à deux fragments interstitiels :

46,XX.ish t(7;17)(q32.3q33;q21.33q22)(RP11-372E15-,RP11-379D19+;RP11-379D19-, RP11-372E15+).

Une translocation réciproque à deux fragments interstitiels est un événement très rare dont l'incidence est estimée à 1/80.000 naissances (1). La région dupliquée du chromosome 7 contient 8 gènes, mais jusqu'à présent aucun n'a été associé à une pathologie. Dans la région délétée du chromosome 17, 39 gènes sont répertoriés, dont 5 sont décrits impliqués dans des pathologies humaines. Parmi eux, le gène COL1A1 qui est impliqué dans l'ostéogénèse imparfaite, ce que présentent les 2 patients (2). Les anomalies de l'émail et des cheveux pourraient être liées à la délétion du gène DLX3, impliqué dans le syndrome tricho-dento-osseux. Les anomalies dentaires sont aussi un élément de l'ostéogénèse imparfaite. Deux gènes de la région dupliquée et 15 gènes de la région délétée s'expriment dans le cerveau. Il est probable que l'un de ces gènes soit impliqué dans le retard mental et la dysmorphie qui n'évoquent pas de syndrome connu.

L'identification d'autres patients présentant le même phénotype pourrait permettre d'analyser ces gènes à la recherche d'une mutation ou d'un microremaniement de plus petite taille.

1- Van Hemel JO, Eussen HJ. Interchromosomal insertions. Identification of five cases and a review. Hum Genet. 2000 Nov;107(5):415-32.
2- van Dijk FS et al . Complete COL1A1 allele deletions in osteogenesis imperfecta. Genet Med. 2010 Nov;12(11):736-41.

session simultanée 2
Thème 2.Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

ETUDE DE L'ETAT DE METHYLATION D'UNE REGION DU CHROMOSOME 14 DELETEE DE MANIERE RECURRENTE CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE RETARD GLOBAL DU DEVELOPPEMENT

A VUILLOT (1), B GILBERT-DUSSARDIER (1), A KITZIS (1), F BILAN (1)

1. Service de Génétique, CHU de POITIERS, POITIERS, France

Cas Clinique et origine de l'étude

Le cas index est une patiente âgée de 15 ans qui présente des difficultés d'acquisition et un syndrome polymalformatif associant une malformation labio-palatino-maxillaire, une agénésie du corps calleux, un colobome oculaire, une scoliose et une dolichocéphalie. L'étude par CGH-microarray a mis en évidence une délétion hétérozygote, héritée de son père, de la région 14q21.1 qui ne contient pas de gène. La littérature montre qu'une perte de fonction de SEC23A, gène situé en amont de cette région, est désignée comme causal de la cranio-lenticulo-suturo-dysplasie, pathologie caractérisée par des anomalies du squelette et des malformations faciales. Certains de ces symptômes étant retrouvés chez notre patiente nous avons émis l'hypothèse que la délétion de cette région entraînerait une dérégulation de l'expression de SEC23A, qui serait à l'origine de certaines manifestations cliniques visualisées chez la patiente. Des patients, cliniquement similaires à la notre, sont décrits dans la littérature. Ils ont tous hérité cette délétion de leur père. Au vu de ces données nous avons émis l'hypothèse que la région 14q21.1 serait soumise à empreinte, ce qui expliquerait le mode de transmission de la pathologie. Cette hypothèse concorde avec différentes études qui sont en faveur d'un phénomène d'empreinte parentale de la région 14q21.

Matériels et méthodes

Après extraction de l'ADN à partir d'un échantillon de sang, l'étude de la méthylation de la région d'intérêt s'effectue grâce à un traitement de l'ADN par du bisulfite de sodium. Celui-ci converti les cytosines non méthylées en uracyl, alors que les cytosines méthylées restent inchangées. L'ADN est ensuite amplifié par PCR puis séquencé.

Résultats

L'analyse informatique de la région délétée montre que les régions conservées chez la souris ont pour la plupart une fonction encore inconnue et révèle la présence d'une vingtaine de régions contenant potentiellement des îlots CpG, dont 9 sont situés dans des séquences de type Alu. Nous avons étudié l'état de méthylation de 12 régions, chez le cas index et chez un individu de la population générale. Parmi les îlots CpG non Alu, l'un d'entre eux, que nous avons appelé P8, montre des différences de méthylation sur 5 îlots CpG entre la patiente et des membres de sa famille porteurs de la délétion. La région P8 est par ailleurs répétée plusieurs fois dans le génome en amont de gènes sur différents chromosomes, avec une conservation dépassant à chaque fois 90% d'identité. L'étude de cette région est donc particulièrement difficile.

Conclusions-perspectives

(1) La différence de méthylation au niveau de 5 îlots CpG entre la patiente et des sujets contrôles est en faveur d'un mécanisme d'empreinte parentale. Ces données doivent être confirmées par des PCR spécifiques de la région 14q21.1.

(2) Une étude quantitative de l'ARNm de SEC23A est envisagée chez le cas index et sa famille.

session simultanée 2
Thème 2.Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

EVALUATION MEDICO-ECONOMIQUE DE LA TECHNIQUE D'ANALYSE CHROMOSOMIQUE SUR MICRORESEAU DANS LE DIAGNOSTIC GENETIQUE DE LA DEFICIENCE INTELLECTUELLE. "SOUTIEN DES INNOVATIONS DIAGNOSTIQUES ET THERAPEUTIQUES COUTEUSES"

M Béri-Dexheimer (1), K Hosseini (2), J Andrieux (3), S Manouvrier (4), C Le Caignec (5), JM Rival (5), C Henry (6), L Pasquier (7), L Taine (8), B Arveiler (8), MA Delrue (8), M Doco-Fenzy (9), D Gaillard (9), C Missirian (10), A Moncla (10), M Goossens (11), L Lecerf (11), J Vigneron (12), B Leheup (13), F Guillemin (2), P Jonveaux (1)

1. Service de Génétique, CHU Nancy et EA 4368 Université de Lorraine, Vandoeuvre-les-Nancy, France
2. Inserm CIC-EC CIE6, CHU Nancy Université de Lorraine, Vandoeuvre les Nancy, France
3. Laboratoire de Génétique, CHU Lille, Lille, France
4. Service de Génétique, CHU Lille, Lille, France
5. Service de Génétique, CHU de Nantes, Nantes, France
6. laboratoire de Cytogénétique, CHU de Rennes, Rennes, France
7. Service de Génétique, CHU de Rennes, Rennes, France
8. Service de Génétique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
9. Service de Génétique, CHU de Reims, Reims, France
10. Service de Génétique, CHU de Marseille, Marseille, France
11. Laboratoire de Génétique, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
12. Service de néonatalogie et génétique clinique, Maternité Régionale de Nancy, Nancy, France
13. Service de médecine infantile 3 et génétique clinique, CHU Nancy et EA 4368 Université de Lorraine, Vandoeuvre-les-Nancy, France

L'analyse chromosomique sur microréseau (ACM) a amélioré le taux de détection des déséquilibres génomiques (DG) à l'origine de la déficience intellectuelle (DI). A ce jour, le coût de cet examen reste supérieur à celui des examens de cytogénétique (CG) et cytogénétique moléculaire (CGM).

Objectif : Evaluer l'impact médico-économique de l'utilisation de l'ACM et sa place dans la stratégie diagnostique d'une DI comparée à la FISH multitélomérique (stratégie de référence)

Méthode : Etude multicentrique menée dans 7 centres français de 2004 à 2006, incluant 402 patients présentant une DI modérée à sévère d'étiologie inconnue à caryotype et FISH normaux. Le critère de jugement (efficacité diagnostique) était le DG délétère détecté par chaque stratégie. Le ratio coût-efficacité exprime le coût supplémentaire d'un DG délétère détecté par ACM, par rapport aux examens génétiques utilisés jusqu'alors. L'analyse de sensibilité est basée sur différents scénarios qui prennent en compte le positionnement de l'ACM dans la stratégie diagnostique de la DI

Résultats : Les patients ont eu 17,9 (±10,47) analyses (biologie, électrophysiologie, imagerie, génétique) avant l'ACM, dont 4,9 (±2,55) analyses génétiques par patient. Le coût total moyen de ce bilan est de 1636,30 € (±878,33), dont 1080,70 € (±686,88) pour les examens génétiques. Une grande variabilité des pratiques est notée en fonction des centres. L'ACM conduit à un diagnostic étiologique chez 55 patients (14%). Pour 30 patients, un déséquilibre considéré comme a priori polymorphe (hérité d'un parent indemne) a été décelé et pour 25 patients, la signification clinique du déséquilibre était incertaine (absence d'information sur la survenue de novo et de données dans la littérature). Pour l'ensemble des patients le coût de la de l'ACM (réf V3.1) est de 452 611,80 € et l'efficacité de cette technique est de 55 diagnostics. Si on considère uniquement le coût de l'ACM comme coût supplémentaire, le ratio coût-efficacité (RCE) est alors de 8 229,30 € par DG supplémentaire détecté par ACM.

Analyse de sensibilité. Scénario 1 : l'ACM réalisée en 1ère intention apporte une économie de 4526,50 € par DG supplémentaire détecté, par rapport à la réalisation de l'ACM après les examens

de CG et CGM. Scénario 2 : l'ACM réalisée après les examens biologiques et d'imagerie permet une économie de 1 219,88 € par DG supplémentaire détecté par rapport à la réalisation de l'ACM après les examens de CG et CGM. Scénario 3 : L'ACM est réalisée en 1ère intention (scénario 1) auquel on associe l'étude de variation du coût des examens pour déterminer le caractère hérité du DG. Le RCE bascule d'une économie à un coût supplémentaire par anomalie détectée au seuil de coût des examens de contrôle de 620 €.

Conclusion : L'ACM apporte un bénéfice médico-économique dans la prise en charge diagnostique d'une DI. Sa prescription en première intention constituerait en outre un gain économique en évitant la multiplication d'examens coûteux.

session simultanée 3
Thème 3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

MISE EN EVIDENCE D'UN NOUVEAU GENE IMPLIQUE DANS LES FORMES AUTOSOMIQUES DOMINANTES A DEBUT PRECOCE DE MALADIE D'ALZHEIMER PAR SEQUENÇAGE D'EXOMES

C Pottier (1), D Hannequin (1), S Coutant (1), A Rovelet-Lecrux (1), D Wallon (1), S Rousseau (1), S Legallic (1), C Paquet (2), S Bombois (3), J Pariente (4), C Thomas-Anterion (5), A Michon (6), B Croisile (7), F Etcharry-Bouyx (8), C Berr (9), JF Dartigues (10), P Amouyel (11), H Dauchel (12), C Boutoleau-Bretonnière (13), C Thauvin (14), M Letexier (15), T Frebourg (16), JC Lambert (11), D Campion (17)

1. Inserm U614, CNR-MAJ, Rouen University Hospital, Faculty of Medicine, Institute for Biomedical Research and Innovation, University of Rouen, Rouen, France
2. CMRR Nord, INSERM U 839, Lariboisière University Hospital, Paris, France
3. EA1046, CNR-MAJ, Lille Nord University Hospital, Lille, France
4. Department of Neurology, CMRR and INSERM U825, Purpan University Hospital, Toulouse, France
5. Department of Neurology, CMRR, University Hospital Nord, Saint Etienne, France
6. CNR-MAJ, CRCICM, IM2A, UMR-S975 AP-HP, University Hospital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
7. Department of Neuropsychology, CMRR, University Hospital, Groupe Hospitalier Est, Bron, France
8. Department of Neurology, Angers University Hospital, Angers, France
9. INSERM U888, Hôpital La Colombière, Montpellier, France
10. INSERM U897, Victor Segalen University, Bordeaux, France
11. INSERM U744, Pasteur Institute of Lille, Lille, France
12. LITIS, University of Rouen, Rouen, France
13. Department of Neurology, CMRR, Nantes University Hospital, Nantes, France
14. Department of Genetics, Dijon University Hospital, Dijon, France
15. Informatics, Integragen, Evry, France
16. Inserm U614 et Département de Génétique, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie et CHU, Rouen, France
17. Inserm U614, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie, Rouen, France

La maladie d'Alzheimer à transmission autosomique dominante et début précoce (ADEOAD) est une forme rare de la maladie débutant avant 60 ans et dont la prévalence est estimée à 5,3 pour 100.000 personnes. Sur 130 familles d'ADEOAD analysées par le Centre National de Référence Maladie d'Alzheimer Jeunes, 89% sont liées à des mutations dans les gènes APP, PSEN1 et PSEN2, ainsi qu'à des duplications touchant le gène APP. Dans les familles résiduelles, nous avons effectué un séquençage d'exome sur 14 cas index et nous avons filtré l'ensemble des variations présentes dans les bases de données. Un seul gène présentait des mutations inconnues, dont 6 faux-sens et 1 non-sens, avec une forte récurrence (7/14). Six de ces variations n'ont pas été détectées dans une population contrôle de 1500 individus. L'analyse de 72 exomes contrôles a montré une faible prévalence de variations inconnues sur ce gène (2/72). Dans un échantillon de réplication de 15 autres familles ADEOAD d'origine Européenne, 3 autres variations inconnues dont une non-sens ont été mises en évidence par séquençage de ce même gène. Des analyses de prédiction in silico de pathogénicité nous ont permis de conclure que 7/10 des variations privées identifiées sur ce gène dans l'ensemble de ces 29 familles ont un caractère probablement pathogénique. Nos résultats démontrent pour la première fois que le séquençage d'exome permet identifier avec succès un gène potentiellement impliqué dans une maladie Mendélienne malgré la présence d'une forte hétérogénéité génétique.

session simultanée 3
Thème 1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

IDENTIFICATION DE SMOC2 COMME UN GENE MAJEUR DU DEVELOPPEMENT DENTAIRE PAR CARTOGRAPHIE PAR HOMOZYGOTIE CLASSIQUE ET ETUDE DE GENE CANDIDAT (DEFIANT L'APPROCHE PAR SEQUENÇAGE EXOMIQUE)

A Bloch-Zupan (1), X Jamet (2), C Etard (3), V Laugel (4), J Muller (5), V Geoffroy (6), JP Strauss (7), V Pelletier (8), V Marion (9), O Poch (10), U Strahle (11), C Stoetzel (12), H Dollfus (9)

1. Reference Centre for Orodental Manifestations of Rare Diseases, Service de Médecine et Chirurgie Buccale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS),, Strasbourg, France
2. University of Strasbourg, Faculty of Dentistry, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS), Strasbourg, France
3. Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für Toxikologie und Genetik (ITG), Campus Nord, Hermann-von-Helmholtz-Platz 1, Eggenstein-Leopoldshafen, Allemagne
4. Development and stem cell Department, IGBMC (Institute of Genetics and Molecular and Cellular Biology), INSERM, U964; CNRS, UMR7104, Illkirch, France
5. Integrative bioinformatics and genomics Laboratory, Structural biology and genomic Department, UMR7104 CNRS/INSERM/UDS, IGBMC (Institute of Genetics and Molecular and Cellular Biology), INSERM, U964; CNRS, UMR7104, Illkirch, France
6. BioInformatics Platform of Strasbourg, UMR7104, CNRS/INSERM/UDS, IGBMC (Institute of Genetics and Molecular and Cellular Biology), INSERM, U964; CNRS, UMR7104, Illkirch, France
7. Cabinet dentaire, 34 rue Paul Cézanne, Mulhouse, France
8. Centre de Référence pour les Affections Rares en Génétique Ophtalmologique (CARGO), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
9. Laboratoire de Physiopathologie des Syndromes rares Héréditaires, Equipe Avenir-Inserm, Faculté de Médecine de Strasbourg, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
10. Integrative bioinformatics and genomics Laboratory, Structural biology and genomic Department,BioInformatics Platform of Strasbourg, CNRS/INSERM/UDS, IGBMC (Institute of Genetics and Molecular and Cellular Biology), INSERM, U964; CNRS, UMR7104, Illkirch, France
11. Karlsruher Institut für Technologie (KIT),, Institut für Toxikologie und Genetik (ITG), Eggenstein-Leopoldshafen, Allemagne
12. Laboratoire de Physiopathologie des Syndromes Rares Héréditaires, Equipe Avenir-Inserm, Faculté de Médecine de Strasbourg, Université de Strasbourg, Strasbourg, France

Les malformations dentaires héréditaires constituent un groupe très hétérogène sur un plan clinique et génétique. L'étude par cartographie par homozygotie et sélection de gènes candidats d'une famille consanguine atteinte d'anomalies du développement dentaire très particulières associant une dysplasie dentinaire avec une microdontie et des anomalies dentaires de nombre et de forme a permis de mettre en évidence une zone unique en 6q27-ter. Les enfants atteints sont porteurs d'une mutation dans le gène SMOC2 : c.84+1G>T /c.84+1G>T. Cette mutation concerne le site canonique donneur de l'intron 1 du gène SMOC2. Le knockdown de smoc2 de Danio rerio montre des anomalies dentaires ressemblant aux anomalies du phénotype humain. De plus, la déplétion de smoc2 affecte l'expression de 3 gènes majeurs du développement dentaires : dlx2, bmp2 et pitx2. Il est à noter qu'une étude complémentaire par séquençage exomique ne permettait pas d'identifier cette mutation, la zone de Smoc2 n'étant pas couverte. Cette étude met en évidence le rôle de SMOC2, une protéine sécrétée de type 2 de la famille BM40 calcium dépendante, au niveau du développement dentaire et souligne les carences potentielles du séquençage exomique.

session simultanée 3
Thème 3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

DISCOVERY OF GENETIC VARIANTS IMPLICATED IN INSULIN RESISTANCE THROUGH NOVEL APPLICATION OF A GENOME-WIDE APPROACH THAT ACCOUNTS FOR BODY MASS INDEX AND SNP BY BODY MASS INDEX INTERACTION ON FASTING GLYCEMIC TRAITS

N Bouatia-Naji (1), Inv MAGIC (2)

1. CNRS UMR8199 Université Lille Nord de France, Inserm U970, Université Paris-Descartes, HEGP Paris centre de recherche cardiovasculaire, Paris, France
2. Meta-Analyses of Glucose and Insulin related traits Consortium, International, Working Group, France

Recent genetic studies have identified many loci implicated in type 2 diabetes (T2D) pathophysiology, most of which are associated with beta-cell dysfunction rather than insulin resistance. We hypothesize that accounting for (1) heterogeneity in body mass index (BMI) and (2) potential SNPxBMI interactions, will increase our ability to identify genetic loci associated with traits associated with insulin resistance. We developed the joint meta-analysis (JMA) approach, which tests both the main genetic effect and any potential interaction between a SNP and BMI, and provides increased power for detecting the association signal when underlying interaction effects are suspected but unknown. Here, we present the results of a genome-wide study by the Meta-Analysis of Glucose and Insulin-related traits Consortium (MAGIC) wherein we jointly meta-analyze SNP and SNPxBMI effects to screen for genetic loci associated with log(fasting insulin) and fasting glucose in 47 cohorts comprising up to 88,771 individuals. After discovery analyses, we promoted 51 loci (JMA P < 10-6) to a follow-up phase (31 for fasting insulin, 21 for fasting glucose, one overlap). In addition to loci previously associated with T2D or glycaemic related traits, 14 new loci reached genome-wide significance (P < 5x10-8) in combined discovery and follow-up analysis in either JMA or main effects models. The nearest genes and JMA P values for fasting insulin are COBLL1/GRB14 (P=8°x10-14), IRS1 (P=7°x10-14), PPP1R3B (P=7°x10-14), PEPD (P=8°x10-8), UHRF1BP1 (P=1.4°x10-7), PDGFC (P=7.2°x10-10), LYPLAL1 (P=2.1°x10-8), and for fasting glucose are PCSK1 (P=2°x10-9), OR4S1 (P=1°x10-8), ARAP1 (P=1°x10-12), FOXA2 (P= 3°x10-11), GRB10 (P=6°x10-8), PPP1R3B (P=1.8°x10-9 in main effects models adjusting for BMI), DPYSL5 (P=1°x10-12), CREB3L1 (P=3.4°x10-8) in main effects models without adjustment for BMI). Four loci have nominally significant interaction tests: COBLL1/GRB14 (P=0.0005) and IRS1 (P=0.02) for fasting insulin and PCSK1 (P=0.04) and OR4S1 (P=0.009) for fasting glucose. Our study demonstrated that by allowing for interaction with adiposity using the JMA method, we could more readily detect loci associated with insulin resistance traits at genome-wide significance levels. The identification of these new loci offers the potential to further characterize the role of insulin resistance in T2D pathophysiology.

session simultanée 3
Thème 3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

UNE NOUVELLE STRATEGIE PORTANT SUR L'ETUDE DE PATIENTS TRISOMIQUES A PERMIS D'IDENTIFIER LE LOCUS DSCAM COMME FACTEUR DE SUSCEPTIBILITE A LA MALADIE DE HIRSCHSPRUNG

AS Jannot (1), A Pelet (2), A Henrion-Caude (2), M Masse-Morel (2), S Arnold (3), I Ceccherini (4), S Borrego (5), RMW Hofstra (6), A Munnich (2), A Chakravarti (7), J Clerget-Darpoux (1), J Amiel (2), S Lyonnet (2)

1. INSERM U-669, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France
2. INSERM U-781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Center for Complex Disease Genomics, McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, USA
4. Laboratorio di Genetica Molecolare, Istituto Gaslini, Genova, Italie
5. Unidad de Gestión Clínica de Genética, Reproducción y Medicina Fetal. Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS), Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, Espagne
6. Department of Genetics, University Medical Center Groningen, Groningen, Pays-bas
7. Center for Complex Disease Genomics, McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, France

La maladie de Hirschsprung (HSCR), ou mégacôlon, est une malformation congénitale caractérisée par l'absence de ganglions entériques sur une longueur variable de l'intestin distal. Le gène RET, sur le chromosome 10q12, est le locus majeur à la fois dans les formes isolées et syndromiques de HSCR. La prédisposition à HSCR chez les individus atteints d'une trisomie 21 suggère fortement qu'il existe un facteur de susceptibilité impliqué dans HSCR sur le chromosome 21.

Pour identifier ce(s) facteur(s) de susceptibilité, nous avons effectué une étude d'association portant sur 7691 SNPs du chromosome 21 génotypés chez 28 enfants trisomiques HSCR et leurs parents sains grâce à une stratégie que nous avons développée spécifiquement pour traiter ce type d'échantillon. Après correction pour tests multiples, le seul résultat significatif est obtenu pour deux SNPs (rs2837770 et rs8134673) en association complète situés dans l'intron 3 du gène DSCAM, gène exprimé pendant le développement du système nerveux entérique (p nominale = 2.2x10 -5, et après correction pour tests multiples p = 0,018).

Afin de déterminer si ces SNPs sont associés à HSCR dans les formes isolées, nous avons utilisé un échantillon indépendant de 220 patients HSCR non syndromiques et leurs parents. Nous avons confirmé l'association entre ces SNPs (rs2837770 et rs8134673) et HSCR (p = 0,01) dans cet échantillon démontrant ainsi qu'il s'agit d'un locus de susceptibilité de HSCR à la fois dans le syndrome de Down et pour les cas isolés de HSCR.

Par ailleurs, ces conclusions sont confirmées par deux études précédentes indépendantes ayant cartographié une région de susceptibilité HSCR englobant le gène DSCAM.

Enfin, la méthodologie que nous proposons pour analyser les patients trisomiques pourrait permettre d'élucider les mécanismes génétiques à l'origine d'autres phénotypes associés à la trisomie 21, comme les malformations cardiaques. On peut enfin imaginer son extension à l'analyse des facteurs de prédisposition aux endophénotypes d'autres aneusomies.

session simultanée 3
Thème 3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

IDENTIFICATION DE SOUS GROUPES PHENOTYPIQUES DANS L'AUTISME ET RECHERCHE DE DIAGNOSTIC ETIOLOGIQUE GENETIQUE A PROPOS DE 87 PATIENTS.

IDENTIFYING PHENOTYPES AND EXPLORING GENETIC AETIOLOGY OF AUTISM SPECTRUM DISORDER : A STUDY OF 87 PATIENTS

E LANDAIS (1), N GOLOVKINE (2), R DARD (3), F LEMPP (4), O LARQUEY (5), C MULLER (5), S GODET (5), R SENEZUK (5), MA COCHET (5), M ROBY (5), I EVELLIN (5), N BEDNAREK (6), A LANNOY (3), P JONVEAUX (7), M BERI (7), C BONNET (7), J MOTTE (6), G SCHMIT (8), D GAILLARD (9), M DOCO-FENZY (10)

1. Service de Génétique, HMB, PRBI, CHU Reims, Reims, France
2. CRA Champagne Ardenne, HRD, Service de psychothérapie de l'enfant et l'adolescent, HRD, CHU Reims, Reims, France
3. Service de Génétique, HMB, CHU Reims, Reims, France
4. Service de psychothérapie de l'enfant et l'adolescent, HRD, CHU Reims, Reims, France
5. CRA Champagne Ardenne, HRD, CHU Reims, Reims, France
6. Service de pédiatrie, AMH, CHU Reims, Reims, France
7. Service de Génétique, CHRU Nancy, Nancy, France
8. CRA Champagne Ardenne, Service de psychothérapie de l'enfant et l'adolescent, HRD, CHU Reims, Reims, France
9. Service de Génétique, HMB, IFR53, CHU Reims, Faculté de médecine Reims, Reims, France
10. Service de Génétique, HMB, IFR53, CHU Reims, Faculté de médecine Reims, Reims, France

L'autisme touche 70 à 80 000 personnes en France et se caractérise par des troubles de la communication, du comportement et des relations sociales. Cette pathologie atteint trois fois plus souvent les garçons avec des manifestations cliniques très hétérogènes. Elle peut parfois être associée à une déficience intellectuelle ou à une épilepsie. Bien qu'une composante génétique soit communément admise, cette origine n'a été démontrée que pour certains patients et de nombreux diagnostics étiologiques restent à établir.

Nous rapportons une étude collaborative réalisée entre le service de génétique du CHU de Reims et le Centre de Ressources Autisme Champagne-Ardenne (CRA) ayant pour but de définir des sous-groupes phénotypiques chez les enfants autistes et de rechercher au sein de ces groupes la présence de remaniements chromosomiques délétères et récurrents.

A partir d'une cohorte de 87 enfants et adolescents reçue au CRA pour bilan diagnostique d'autisme et d'évaluation des compétences, nous avons identifié 5 différents sous groupes phénotypiques (8 à 32 enfants par groupe). Ces groupes ont été définis en fonction à la fois de l'évaluation du comportement et du niveau d'efficience intellectuelle (tests PEP-R, CARS-T, ADI-R). Parmi les enfants entrant dans ces sous groupes, 45 patients (6 à 14 par groupe) ont fait l'objet d'une étude génétique par CGH-array (puce oligonucléotides 180K) avec analyse préalable de FMR1.

L'analyse en CGH-array a montré la présence de variations de nombre de copies (CNV) non référencées comme polymorphiques chez 28 des 45 enfants (soit 49 déséquilibres) avec une moyenne de 2 anomalies par patient. Une anomalie délétère a été retrouvée chez 5 enfants appartenant à 4 sous-groupes différents. Une étude parentale a été réalisée pour 10 enfants, soit pour 14 des 49 déséquilibres : 2 remaniements étaient survenus de novo, 12 étaient hérités d'un parent. Les deux remaniements de novo étaient une délétion en 6q26 dans le gène PACRG et la présence d'un isochromosome Yp (entraînant une délétion du gène des neuroligines NLGN4Y). Néanmoins le caractère délétère de ces anomalies est incertain.

Cinq des 49 CNVs concernaient des régions préalablement décrites dans l'autisme : 1q21.1, 3p26.3q26.2 (CNTN4), 15q13.3 (CHRNA7), 16p11.2 et Xp22.31. Les trois anomalies en 3p26 (dup)

et Xp22 (del/dup) semblent d'avantage spécifiques à l'autisme car elles n'ont pas été retrouvées dans notre cohorte de 400 patients ayant bénéficié d'une CGH-array pour retard mental.

En conclusion, la CGH-array nous a permis d'établir un diagnostic étiologique pour 11% des enfants autistes même si une étude parentale n'a pu être réalisée que pour un tiers des patients. Il est nécessaire d'étendre cette étude aux autres enfants de la cohorte et de poursuivre l'investigation des CNVs de signification inconnue (de novo ou hérités) dont l'absence de pathogénicité reste à démontrer.

session simultanée 3
Thème 3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

DES ANOMALIES DU COMPLEXE SKI, UN COMPLEXE MULTIPROTEIQUE ASSURANT LA DEGRADATION DES ARN ABERRANTS, SONT A L'ORIGINE DES DIARRHEES SYNDROMIQUES (SYNDROME TRICHO-HEPATO-ENTERIQUE).

Alexandre Fabre(1), Christine Martinez(2), Vinson Caroline Lacoste(1), Virginie Colomb(3), Julien Royet(4), Nicolas Levy(1), Catherine Badens(1)
1 - APHM Hôpital de la Timone/UMR 910 Aix-Marseille Université
2 - APHP Hôpital Robert Debré
3 - APHP Hôpital Necker Enfant Malade
4 - IBDML/ Aix-Marseille Université

Les diarrhées syndromiques ou syndrome tricho-Hepato-Enterique (SD/THE) sont des syndromes autosomiques récessisf associant une diarrhée grave rebelle, une dysmorphie, un RCIU, une anomalie des cheveux et de l'immunité. Récemment des mutations dans le gène *TTC37* ont été rapportées comme étant responsables de ce syndrome. Le rôle de la protéine TTC37 était inconnu jusqu'à présent.
Dans notre série de 16 patients atteints de SD/THE, 7 ne présentent pas de mutation de *TTC37* en dépit d'un tableau clinique typique. Dans certaines bases de données, *TTC37* est décrit comme étant l'orthologue humain du gène de levure Ski3. Ski3p est un des constituants du complexe ski, un complexe multiprotéïque de dégradation des ARN aberrants . Les partenaires de Ski3p, Ski2p et Ski8p ont aussi des orthologues humains respectivement SKIV2L et WDR61. Le séquençage direct de SKIV2L chez les 7 patients qui ne présentaient pas de mutation dans TTC37 nous a conduit à l'identification de mutations pathogènes chez tous les patients. Parmi le 9 mutations identifiées, 7 entraînent l'apparition de codons stops prématurés suggérant que le mécanisme pathologique est une perte de fonction. L'analyse de ségrégation au sein des familles concorde avec une transmission autosomique récessive.
Le complexe SKI a surtout été étudié chez la levure où il est responsable de la dégradation des ARNs aberrants, en particulier par le mécanisme de Non Sense Mediated mRNA Decay, mais il est également présent chez l'homme. Compte tenu de la grande homogénéïté du tableau clinique observé chez les patients mutés dans *TTC37 et SKIV2L*, il est probable que ces deux protéines sont partenaires comme chez la levure et que le syndrome SD/THE est du à un dysfonctionnement de ce complexe.
Cette description conduira à une meilleure compréhension des bases physiopathologiques des syndromes DGRS/THE ainsi qu'à des possibilités nouvelles d'étude du complexe SKI chez l'homme.

session simultanée 3
Thème 3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

RECHERCHE PANGENOMIQUE DE GENES MODIFICATEURS DE LA PENETRANCE DE L'HEMOCHROMATOSE-HFE

R Bouvet (1), M de Tayrac (2), Y Deugnier (3), E Génin (4), AM Jouanolle (5), J Morcet (3), J Mosser (2), M Perrin (3)

1. Plateforme Génomique Santé Biogenouest Rennes, Biogenouest, Rennes, France
2. Laboratoire de Génomique Médicale, Hôpital de Pontchaillou, Rennes, France
3. Centre d'investigation clinique (CIC INSERM 0203), Hôpital de Pontchaillou, Rennes, France
4. INSERM U946, Fondation Jean Dausset - CEPH, Paris, France
5. Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital de Pontchaillou, Rennes, France

L'hémochromatose constitue la forme la plus commune de maladie génétique de surcharge en fer. Elle peut conduire notamment à des atteintes sévères du foie (cirrhose, hépatocarcinome) et du cœur (arythmies, insuffisance cardiaque). L'hémochromatose de type 1 représente plus de 95 % des formes d'hémochromatoses, elle est principalement due à l'homozygotie C282Y (p.Cys282Tyr/p.Cys282Tyr) du gène HFE. Toutefois, ce génotype apparaît comme une condition nécessaire mais non suffisante à la constitution d'un tableau clinico-biologique symptomatique de surcharge en fer. En effet, de fréquence élevée, cette homozygotie présente une pénétrance clinique faible (1% chez les femmes à 25% chez les hommes). L'expressivité de la maladie est particulièrement variable, tant du point de vue de la surcharge en fer que de l'atteinte des organes. Des études montrent qu'en plus des facteurs environnementaux, une composante génétique expliquerait ces variations phénotypiques. L'objectif de notre étude était d'identifier les gènes modificateurs dont les variants alléliques sont associés aux phénotypes biologiques et à la pénétrance clinique de la maladie. Au total 500 patients homozygotes C282Y non apparentés, pour lesquels les paramètres clinico-biologiques suivants étaient informés : âge, sexe et critères biologiques d'expression de la surcharge (nombre de grammes de fer soustrait, ferritinémie, saturation de la transferrine et fer sérique) ont été génotypés. Le génotypage a été effectué grâce à la technologie Illumina™ InfiniumHD (Human660W-Quad). Pour chacun des critères biologiques d'expression de la surcharge, des analyses d'association génotype-phénotype (GWAS) ont été réalisées pour l'ensemble des variants communs (MAF > 5%) grâce à la librairie GenABEL du logiciel R (http://www.r-project.org/). Les modèles de régression linéaire, prenant en compte les effets additifs du génotype, ont été ajustés sur l'âge et le sexe. Ces analyses ont permis l'établissement d'un catalogue de 30 polymorphismes d'intérêt. Parmi ces marqueurs, nos résultats répliquent le SNP rs3811647 localisé dans l'intron 11 du gene TF codant la transferrine (p=1.10-6), et identifient de nouveaux gènes susceptibles de moduler la surcharge en fer. Particulièrement, 3 loci (4p16.2, 10q26.12 et 16q21) ont été identifiés comme associés à la fois à la ferritinémie et à la quantité de fer soustrait (p est inférieur à 10-5). La réplication des résultats obtenus sur une cohorte indépendante (n = 900) est en cours et permettra de valider ces résultats et d'identifier les polymorphismes les plus fortement associés à la pénétrance de la maladie. La connaissance de ces polymorphismes génétiques aura à terme des répercussions sur la prévention, le conseil génétique, le diagnostic et le traitement de l'hémochromatose.

session simultanée 3
Thème 3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

GENETIC VARIANCE OF THREE MAJOR COAGULATION INHIBITORS AND ITS IMPACT ON VENOUS THROMBOSIS: INSIGHTS FROM GENOME WIDE ASSOCIATION STUDIES

PE Morange (1), T Oudot-Mellakh (2), W Cohen (1), M Germain (2), N Saut (1), JC Lambert (3), MC Alessi (1), D Zelenika (4), P Amouyel (3), M Bertrand (5), AM Dupuy (6), L Letenneur (7), M Lathrop (4), J Emmerich (8), DA TREGOUET (2)

1. INSERM UMR_S 626, Hopital La Timone, Marseille, France
2. INSERM UMR_S 937, Hopital Pitié-Salpêtrière, paris, France
3. INSERM UMR_S 744, Institut Pasteur de Lille, Lille, France
4. CNG, CEA, Evry, France
5. INSERM UMR_S 708, Université Pierre et Marie Curie, paris, France
6. INSERM UMR_S 888, Hopital La Colombiere, Montpellier, France
7. INSERM UMR_S 897, Université Victor Segalen, Bordeaux, France
8. INSERM UMR_S 765, Hopital Europeen George Pompidou, Paris, France

Antithrombin (AT), protein C (PC) and protein S (PS) are the three major endogenous anticoagulant in haemostasis. Deficiencies of these three main inhibitors or impaired PC anticoagulant pathway due to genetic mutations or low protein levels increase the risk of venous thrombosis (VT).

By use of genome-wide genotype data obtained in a sample of 1,592 VT patients of French origin, we were able to show that common single nucleotide polymorphisms (SNPs) explained 21%, 27%, and 56% of the genetic variance of plasma AT, PS and PC levels, respectively, and 87% of the genetic variance of the Agkistrodon Contortrix Venom (ACV) test that explores the global PC anticoagulant pathway. While no single SNP came out as a major determinant of AT or PS levels, PROCR locus was found to explained 20% ($p < 10\text{-}31$) and 8% ($p < 10\text{-}11$) of the variability of PC and ACV levels, respectively. In addition, F5 locus was found to explain ~40% ($p < 10\text{-}80$) of the ACV variability. PROCR and F5 loci were further shown to contribute to 2% of the genetic susceptibility of VT risk in a genome-wide association study comparing these 1,592 VT patients to 1,006 healthy French individuals. This study also identified ABO, FGG, F11, HIVEP1 and STAB2 genome-wide significant loci as other VT susceptibility genes explaining an additional 2% of the VT risk whose total genetic variance was estimated to be 35%.

Altogether, these results demonstrated that a large part of the genetic variability of the coagulation cascade remains to be identified among which a substantial part could also contribute to the hidden heritability of VT risk.

session simultanée 6
Thème 6. Dépistage, conseil génétique et éthique

ETAT DE L'ORGANISATION DES SOINS ET DE LA PRISE EN CHARGE DES MALADIES RARES AU CAMEROUN

D Geneviève (1), B Gilbert-Dussardier (2), P Koki (3), H Mbassi (4), C Ngongang (5), E Nomo (6), F Rivier (7), P Sarda (1), A Verloes (8), M Vincent (1), A Wonkam (5)

1. Génétique médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Génétique médicale, Hôpital de la Milétrie, Poitiers, France
3. Néonatologie, Centre mère-enfant de la Fondation Chantal Biya, Yaoundé, Cameroun
4. Neuropédiatrie, Centre mère-enfant de la Fondation Chantal Biya, Yaoundé, Cameroun
5. Génétique médicale, Hôpital Gynéco-Obstétrique et Pédiatrique, Yaoundé, Cameroun
6. Santé publique, Ministère de la santé, Yaoundé, Cameroun
7. Neuropédiatrie, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, France
8. Génétique médicale, Hôpital Robert Debré, Montpellier, France

Les maladies rares sont exceptionnellement perçues comme étant un enjeu de santé publique par les autorités sanitaires des pays en voie de développement. En effet les données de prévalence y sont difficiles à collecter, d'une part parce que le personnel soignant n'est pas formé à leur identification, et d'autre part du fait du manque d'outils technologiques de diagnostic. Au Cameroun les maladies rares sont ordinairement associées à des actes de sorcellerie, non seulement par la population, mais aussi par le personnel soignant. A l'initiative de l'association ALMOHA et avec l'appui institutionnel du ministère de la santé publique camerounais, une mission de 5 mois a été réalisée dans le but d'identifier ces patients et de révéler leurs besoins aux autorités sanitaires.

Plusieurs créneaux de consultations maladies rares ont été ouverts à Yaoundé dans 3 structures hospitalières différentes, et des consultations ponctuelles ont eu lieu dans des hôpitaux régionaux. Cette mission a été supervisée par le service de génétique médicale de Montpellier grâce à des visioconférences régulières.

Un groupe d'experts composé de 3 généticiens, un neuropédiatre, une orthophoniste, une psychomotricienne et une kinésithérapeute est venu assurer des consultations pendant une semaine sur place et ont participé à la formation du personnel soignant aux spécificités de la prise en charge.

A l'issue de la mission de 5 mois, un total de 493 consultations ont été réalisées pour une cohorte de 299 patients. Un quart d'entre eux présente des séquelles neurologiques de souffrance néonatale ou d'infection infantile, et 3/4 ont une très probable maladie rare. Certains syndromes génétiques reviennent plus fréquemment tels que la trisomie 21, la neurofibromatose de type 1, le syndrome d'X fragile, ou la myopathie de Duchenne. Des prélèvements pour confirmation biologique ont pu être réalisés chez 36 patients, dont 24 pour des analyses génétiques à l'étranger. Les pathologies observées ont vraisemblablement la même prévalence que dans les pays développés, par contre les infrastructures de prise en charge, la formation médicale et l'aide sociale font largement défaut.

Cette mission a permis de confirmer l'existence de nombreux cas de maladies rares au Cameroun, de débuter une organisation des soins et une prise en charge adaptée au pays et d'en faire une réalité pour les autorités sanitaires. Un centre de référence maladies rares a été créé par le ministère de la santé publique du Cameroun, où un médecin référent y est chargé de coordonner les centres de compétence régionaux et le réseau de professionnels. Une nouvelle filière de soins et de formation est en cours de création. Les visioconférences sont actuellement poursuivies avec le CHU de Montpellier, et une nouvelle mission d'une semaine aura lieu sur place en février 2012.

session simultanée 6
Thème 6. Dépistage, conseil génétique et éthique

LA QUESTION DE LA TRANSMISSION PSYCHIQUE MERE-FILLE A L'EPREUVE DU PRESYMPTOMATIQUE DE CANCER DU SEIN. LE POINT DU VUE D'UNE PSYCHOLOGUE.

Eva TOUSSAINT (1)

1. Service de génétique, CHU Bordeaux, BORDEAUX, France

Les pratiques évoluent. Les temps changent.

Ce que nous considérons comme le progrès nous entraîne à avancer le moment de survenue des évènements, à bousculer les échéances, à changer leur chronologie.

La place de la médecine prédictive augmente. Penser ce qui va arriver devient ce qui est.

Dans ce contexte, la génétique est de plus en plus une médecine de dépistage et de prédiction. De plus, plus que n'importe quelle autre spécialité de la médecine, la génétique médicale se distingue par une suprématie qui y règne: celle du "dire" sur le "voir". Si la plupart des pathologies génétiquement constituées ont bel et bien une expression visible (handicaps divers, affections neuromusculaires, troubles du développement psychomoteur, les causes avancées par la médecine génétique pour les expliquer (les gènes) demeurent invisibles aux principaux intéressés les patients (...)

Dans le cas du dépistage des cancers familiaux et plus précisément des cancers du sein ou de l'utérus ce qui est en balance c'est bien le choix entre prédire : annoncer ce qui va arriver ou prévoir : imaginer ce qui doit arrive.

De mes rencontres avec les femmes engagées dans une démarche de présymptomatique pour une prédisposition aux cancers (ici BRCA1 et BRCA2) est apparu que la dimension transgénérationnelle, familiale était une dimension essentielle de la problématique du présymptomatique.

Mais dans les risques de cancer cette dimension est forcement féminine et les femmes interrogent à la fois leurs ancêtres (mères, grands-mères, tantes…) mais aussi leurs filles présentes ou à venir.

Nous nous intéresserons dans cette présentation à la question de la transmission psychique mère-fille quand une démarche de présymptomatique est en cours.

Savoir pour qui. Pour soi ?, pour les enfants (présents et/ou à venir)?

Peut-on supporter savoir pour soi, mais pas pour ses enfants ? Car s'interroger pour soi c'est aussi s'interroger pour sa descendance. Peut-on alors prendre le risque de transmettre un tel risque ? Une féminité qui risque d'être « abimée », « malade »?

Car « être à risque » signifie vivre avec le doute pendant longtemps, souvent depuis l'enfance. Vivre dans le doute modifie les possibilités d'agir, de décider et de se projeter dans une vie future avec ou sans la maladie.

Comment effacer en un instant, celui du résultat, toutes les représentations et cette partie de soi si omniprésente qu'est le risque ?

Et après l'annonce (quand la démarche de présymptomatique est poursuivie jusqu'au bout), il faut guérir du risque.

Quels sont les échos psychiques dans le lien mère-fille d'un test prédictif pour un cancer héréditaire ?

Entre risque, prédiction, prévision, réalité et imaginaire, le jeu d'équilibre est complexe et fragile, l'exercice est difficile. Face à un évènement bouleversant, prendre alors le temps de la réflexion et de l'accompagnement peut être d'une grande aide.

Mots clés : transmission psychique, présymptomatique, cancer du sein, risque, annonce

session simultanée 6
Thème 6. Dépistage, conseil génétique et éthique

ATTITUDES VIS-A-VIS DU RECOURS AU DPI ET AU DPN CHEZ DES FEMMES PORTEUSES D'UNE MUTATION BRCA1/2 : UNE ETUDE QUALITATIVE

I Pellegrini (1), N Prodromou (2), L Huiart (3), I Coupier (4), C Nogues (5), C Julian-Reynier (1)

1. INSERM UMR912, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France
2. Département de Psychologie Clinique, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France
3. Service d'Oncogénétique, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France
4. Service de Génétique, CHU Montpellier, Montpellier, France
5. Service de Génétique, Institut Curie et Hôpital René Huguenin, Paris, France

Introduction, objectif :
L'identification des prédispositions héréditaires au cancer par l'intermédiaire des tests génétiques représente un enjeu médical et social majeur. Dans notre législation, diagnostic prénatal (DPN) ou diagnostic pré-implantatoire (DPI) reposent sur l'indication de gravité et d'incurabilité. Les prédispositions génétiques au cancer constituent donc des indications potentielles de DPN et de DPI pour lesquelles existe à l'heure actuelle au niveau international et national un débat législatif, économique, social et éthique.
Cette étude s'intéresse à la façon dont la question « avoir un enfant » se pose pour des femmes ayant une prédisposition génétique aux cancers sein/ovaire (BRCA1/2), et plus précisément aux attitudes et motivations de ces dernières vis-à-vis d'un recours éventuel au DPI ou au DPN.
Méthodes :
En raison du caractère sensible de ces questions, et afin de les contextualiser au mieux, une approche qualitative a été mise en œuvre. Des entretiens individuels semi-directifs et approfondis ont été réalisés à la suite d'une consultation de génétique avec vingt femmes (âgées de 31 à 57 ans), porteuses d'une mutation Brca1 ou 2, et suivies à l'Institut Paoli-Calmettes ou au CHU de Montpellier. Douze d'entre elles avaient eu un cancer, 8 étaient indemnes de la maladie.
Résultats :
Sur l'ensemble des 20 femmes, 12 (60%) se déclarent favorables ou assez favorables à un recours au DPI pour éviter la naissance d'un enfant porteur d'une mutation Brca, et 7 (35%) en ce qui concerne un recours le DPN. L'analyse thématique des entretiens indique que ces positions s'étayent sur une pluralité de raisons qui s'inscrivent dans les trois registres : médical, moral et/ou philosophique, et psychoaffectif.
De façon notable, l'expérience de la maladie s'avère avoir un impact important sur le positionnement des femmes. En effet, la proportion de femmes favorables à un diagnostic anténatal est deux fois plus grand dans le groupe de femmes ayant eu un cancer que dans le groupe de femmes indemnes : 75% vs 37,5% en ce qui concerne le DPI ; 50% vs 25% en ce qui concerne le DPN. L'impact de l'expérience de la maladie se révèle dans le discours des femmes à trois niveaux 1) la perception du risque de développer un cancer, 2) le vécu du suivi médical, et 3) le sens attribué au recours au dépistage anténatal.
Conclusion :
Ces résultats, qui montrent une association entre les attitudes vis-à-vis du recours au diagnostic anténatal et l'expérience de la maladie chez des femmes prédisposées génétiquement au cancer, confirment qu'au-delà des critères objectifs d'incurabilité et de gravité, l'expérience subjective qu'en a eue le patient est à prendre en compte dans les réflexions sur ces questions.

session simultanée 6
Thème 6. Dépistage, conseil génétique et éthique

L'ANNONCE D'ANOMALIES CHROMOSOMIQUES CRYPTIQUES: QUEL RETENTISSEMENT PSYCHOLOGIQUE CHEZ LES CONSULTANTS? RESULTATS D'UNE ETUDE PRELIMINAIRE.

F Houdayer (1), M Gargiulo (2), M Frischmann (3), MP Cordier (1), S Dupuis Girod (1), S Fourdrinoy (1), A Labalme (1), G Lesca (1), M Till (1), D Sanlaville (1), P Edery (1), M Rossi (1)

1. Centre de Référence des anomalies du développement, Service de Cytogénétique Constitutionnelle, CHU, Lyon, France
2. Laboratoire de psychologie clinique et psychopathologie, Université Paris V, Descartes, Sorbonne, Paris cité, France
3. Association Française, contre les myopathies, Evry, France

L'avènement d'outils diagnostiques de haute résolution récents (Analyse Chromosomique sur Puce à ADN) et à venir (séquençage haut débit) sont à l'origine de situations nouvelles entraînant des retentissements psychologiques considérables. Les anomalies chromosomiques cryptiques (ACC) concernent souvent des néomutations et des pathologies sans nom syndromique. Certains microremaniements interrogent le lien génotype-phénotype.
Objectif: Evaluer le retentissement psychologique chez les consultants de l'annonce d'ACC.
Population: 14 couples concernés par l'annonce d'ACC chez leur enfant (diagnostiquée par FISH ou CGHarray). ACC de novo dans 8 cas et transmises dans 6 cas, dont 3 héritées et 3 secondaires à la transmission d'un dérivé d'une translocation parentale équilibrée. ACC identifiées par un nom patronymique dans 5 cas (Syndromes de Williams, Smith Magenis, Angelman, Pitt Hopkins, Phelan McDermid) et par la description cytogénétique dans 9 cas : del(1)(p36.33p36.32),(2)(p14),(2)(p16.3),(12)(q15q21.2);dup(16)(p11.2); duplications en mosaïque (1)(q43q44), (14)(q11q23.3),(19)(q13.43); dérivés de translocations parentales (17q;21q), (2p;5p),(8p;20p).
Méthodologie: 25 entretiens semi-directifs (14 mères, 11 pères) réalisés par une psychologue expérimentée.
Résultats préliminaires:
1)Néomutation VS anomalie transmise.
L'annonce d'une anomalie transmise peut amplifier le sentiment de culpabilité chez le parent transmetteur mais consolider le sentiment de transmission et de filiation. La néomutation peut évoquer une notion de rupture dans la transmission dont l'impact psychologique n'est pas à négliger. Son caractère fortuit peut exacerber la question des origines de l'accident génétique.
2)Nom patronymique VS description cytogénétique.
Le nom syndromique facilite l'appropriation du diagnostic; pour les parents, il est troublant de constater que la ressemblance morphologique entre patients atteints du même syndrome peut être plus manifeste que la ressemblance familiale. A l'inverse, une description cytogénétique est difficilement assimilée à un nom de maladie et ne favorise pas l'accès à la représentation d'une pathologie. La pathologie de l'enfant est plus facile à identifier avec son diagnostic phénotypique (par ex. autisme). Les questionnements semblent se rapprocher de ceux observés en l'absence d'un diagnostic étiologique bien que l'information médicale relative au diagnostic ait été bien retenue.
Conclusion: Résultats confirmant l'intérêt des consultations en binôme généticien-psychologue et nous incitant à convoquer plus systématiquement les parents pour une consultation de suivi d'annonce.
Perspectives:
- Affiner les résultats préliminaires observés sur une population plus élargie
- Préciser le retentissement du diagnostic lorsque l'anomalie est inconnue et/ou identifiée par sa description (cyto)génétique
- Explorer les conséquences psychologiques pour les parents porteurs de CNVs dits « de susceptibilité » (ex. dup16p11.2).

session simultanée 6
Thème 6. Dépistage, conseil génétique et éthique

EXPERIENCE DU TEST PRESYMPTOMATIQUE DANS LA MALADIE DE CREUTZFELDT-JAKOB HEREDITAIRE
PRESYMPTOMATIC TESTING IN HEREDITARY CREUTZFELDT-JACOB DISEASE

E SCHAERER (1), ML BABONNEAU (2), A HERSON (1), JL LAPLANCHE (3), JP BRANDEL (4), O ROSEMBLUM (5), J FEINGOLD (1), M GARGIULO (6), A DURR (7)

1. Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
2. Département de Génétique et Cytogénétique, Cellule Nationale de référence des maladies de Creutzfeld-Jacob, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
3. UF de Génétique Moléculaire Biochimie-Hémostase, Groupe Hospitalier Saint-Louis-Lariboisière-Fernand-Widal, PARIS, France
4. Cellule Nationale de référence des maladies de Creutzfeldt-Jacob, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
5. Département de Psychiatrie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
6. Département de Génétique et Cytogénétique, Laboratoire de Psychologie Clinique et Psychopathologie (EA 4056), Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Université Paris Descartes/Sorbonne Paris Cité/Institut de Psychologie, PARIS, France
7. Département de Génétique et Cytogénétique, INSERM/UPMC/NEB UMR_S975 Génétique des affections neurodégénératives du système nerveux central, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Centre de Recherche Institut du Cerveau et de la Moelle, PARIS, France

Depuis 1992 la consultation pluridisciplinaire dédiée aux tests présymptomatiques de maladies à révélation tardive a accueilli 1776 personnes à risque. La majorité était à risque pour la maladie de Huntington (MH, n=1509, 85%), suivie par les ataxies cérébelleuses autosomiques dominantes (SCA, n=201, 9%), les paraparésies spastiques (SPG, n=38, 2%), les formes héréditaires de la maladie de Creutzfeldt-Jakob ou Insomnie Fatale Familiale (MCJ/IFF, n=14, 0.8%) et les démences fronto-temporales (DFT, n=8, 0.4%).

Par rapport à la MH, le test présymptomatique dans la MCJ/IFF héréditaire a deux spécificités. La première est la survenue aiguë et le décès de l'apparenté en quelques mois, qui submerge les consultants dans un contexte tragique dans lequel ils apprennent leur risque de 50% d'être porteur. La seconde est la pénétrance incomplète qui permet aux consultants de garder l'espoir de ne pas déclarer la maladie dans le cas d'un résultat défavorable.

Entre 2006 et 2011, 14 personnes à risque pour la MCJ/IFF héréditaire ont demandé un test présymptomatique dans notre consultation, 10 femmes et 4 hommes, âgés de 41 ± 10 ans (versus 35 ±12 ans dans la MH, p=0.05). Les motivations pour faire le test concernent l'information des enfants (n=6), «savoir» (n=4), un projet parental (n=2), les autres ne précisent pas. Parmi les 14 personnes à risque, 12 sont allés jusqu'au résultat (6 avec un résultat défavorable) et seulement 2 ont abandonné leur démarche, moins que dans la MH (14% versus 31%, p est inférieur à 0.24). Le temps écoulé entre le premier contact et le début des entretiens pluridisciplinaires était de 6,1 ± 6,9 mois, plus court que dans la MH (9,01 ± 62,5, p est inférieur à 0.004).

Le devenir psychologique des consultants porteurs sera illustré par plusieurs cas cliniques, notamment celui d'une femme porteuse de l'anomalie mais asymptomatique qui, malgré une longue préparation pré-test, a été hospitalisée d'urgence en psychiatrie avec un tableau anxio-dépressif grave exprimant la conviction d'avoir commencé la maladie. Les parents à risque pour la MCJ/IFF héréditaire rendent compte de difficultés à informer leur descendance du risque génétique, difficultés qui seront rapportées au travers d'une famille.

En conclusion, le diagnostic présymptomatique de la MCJ/IFF héréditaire illustre le fait, que plus la maladie est sévère et d'évolution rapide, plus les consultants font la démarche dans un temps court et vont jusqu'à l'obtention du résultat. Bien que l'une des motivations principales soit d'informer les enfants du risque, la difficulté de les informer effectivement qu'ils sont à risque de 50% demeure.

Mots clés : test présymptomatique, maladie de Creutzfeldt-Jacob, neurogénétique

session simultanée 6
Thème 6. Dépistage, conseil génétique et éthique

IMPACT PSYCHOLOGIQUE DU TEST GENETIQUE PREDICTIF DANS LES CARDIOMYOPATHIES
PSYCHOLOGICAL IMPACT OF PREDICTIVE GENETIC TESTING IN CARDIOMYOPATHY

ML BABONNEAU (1), A MALLET (2), B GRANGER (3), P RICHARD (4), V FRESSART (5), F HIDDEN LUCET (6), M KOMAJDA (7), P CHARRON (8)

1. département de génétique et cytogénétique; centre de référence maladies cardiaques héréditaires, CHU Pitié Salpétriere, paris, France
2. Département de Génétique et Cytogénétique ; Centre de Référence des Maladies Cardiaques Héréditaires, CHU Pitié Salpétrière, paris, France
3. Unité de biostatistiques et inforatique médicale, CHU Pitié Salpétrière, paris, France
4. Service de Biochimie; Centre de Référence des Maladies Cardiaques Héréditaires, CHU Pitié Salpétriere, paris, France
5. service de biochimie; Centre de Référence des Maladies Cardiaques Héréditaires, CHU Pitié Salpétrière, Paris, France
6. département de cardiologie, CHU Pitié Salpétrière, paris, France
7. département de cardiolohie, CHU Pitié Salpétriere, paris, France
8. Département de Génétique et Cytogénétique ; Centre de Référence des Maladies Cardiaques Héréditaires, CHU Pitié Salpétriere, paris, France

Les Cardiomyopathies sont des maladies cardiaques habituellement génétiques à transmission autosomique dominante dont l'expression cardiaque est volontiers retardée. Dans les familles avec mutation caractérisée, un test génétique prédictif peut être proposé aux apparentés asymptomatiques ; test dont l'impact médical permet de guider la surveillance cardiologique. L'impact psychologique de ce test est cependant très mal évalué dans ces maladies.

Objectif et méthode. Une étude prospective sur l'impact psychologique du test génétique prédictif chez l'adulte a été menée dans notre centre au sein de familles avec cardiomyopathies. L'étude a été menée en parallèle de la consultation pluridisciplinaire (cardiologue, conseiller en génétique, psychologue) avec un délai de réflexion systématique avant la réalisation du test (≥48h). Des auto-questionnaires ont été distribués après la première consultation (Q1) puis re-adressés un mois après le rendu du résultat génétique (Q2). Les questionnaires évaluaient les niveaux d'anxiété (Staï Trait, Staï Etat), de dépression (Beck Abrégé), de désespoir (Beck H), d'estime de soi, l'impact de l'évènement (I.E.S), la qualité de vie (Whoqol 26) et les motivations. D'autres questionnaires ont recueilli l'avis des participants sur le protocole de test prédictif. Les données recueillies ont été comparées (Test t pour série appariée) avant et après la réalisation du test génétique ainsi qu'en fonction du résultat du test.

Résultats. Soixante-six adultes ont répondu au questionnaire Q1 et 38 au questionnaire Q2 (15 porteurs de mutations : P ; 23 non-porteurs : NP). L'analyse des tests psychométriques ne révèle pas de variation globale significative avant/après le test génétique (niveau d'anxiété faible, bonnes estime de soi et qualité de vie, pessimisme léger, pas de symptômes dépressifs). Cependant le statut génétique influe (p

session simultanée 6
Thème 6. Dépistage, conseil génétique et éthique

INTERET DE L'ETUDE EXHAUSTIVE DE L'ADNMT A TRAVERS L'ANALYSE D'UNE COHORTE DE 734 PATIENTS SUSPECTS DE DEFICIT DE LA CHAINE RESPIRATOIRE.

S Bannwarth (1), AS Lebre (2), V Procaccio (3), C Jardel (4), A Chaussenot (5), B Mousson de Camaret (6), S Marlin (7), CM Dhaenens (8), C Rocher (9), G Hardy (10), A Slama (11), C Hoarau (12), K Fragaki (1), JP Bonnefont (2), A Rötig (13), N Aoutil (4), M Gilleron (4), V Desquiret-Dumas (14), P Reynier (14), J Ceresuela (15), L Jonard (16), A Devos (8), C Espil-Taris (17), J Lunardi (18), P Gaignard (11), V Paquis-Flucklinger (1)

1. Service de Génétique Médicale - Centre de Référence des Pathologies Mitochondriales - LBPG/CNRS UMR6267/INSERMU998/UNS, Hôpital Archet 2, Nice, France
2. Université Paris Descartes - AP-HP - Service de Génétique, INSERM U781 - Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
3. IBS Laboratoire de Génétique, CHU Angers, Angers, France
4. Biochimie Métabolique - Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, Groupe Hospitalier Pitié Salpétrière, Paris, France
5. Service de Génétique Médicale, Hôpital Archet 2, Nice, France
6. Service des Maladies Héréditaires du Métabolisme - Centre de Biologie et de Pathologie Est, Groupement Hospitalier Est - CHU de Lyon, Bron, France
7. Centre de Référence des surdités génétiques, Service de Génétique Clinique, APHP, Hôpital d'Enfants Armand TROUSSEAU, Paris, France
8. UF Génopathies, Laboratoire de Biochimie, Centre de Biologie, CHRU de Lille et Université Lille Nord de France, Lille, France
9. Laboratoire de Physiopathologie Mitochondriale U688, INSERM-Université Victor Segalen-Bordeaux 2, Bordeaux, France
10. Laboratoire de Biochimie et génétique Moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire de grenoble, La Tronche, France
11. Laboratoire de Biochimie, CHU de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
12. Service de Génétique Médicale - Centre de Référence des Pathologies Mitochondriales, Hôpital Archet 2, Nice, France
13. Université Paris Descartes - INSERM U781, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
14. IBS laboratoire de Génétique, CHU Angers, Angers, France
15. Service des Maladies Hérditaires du Métabolisme - Centre de Biologie et de Pathologie Est, Groupement Hospitalier Est - CHU de Lyon, Bron, France
16. Centre de Référence des surdités génétique, Laboratoire de Biochimie, APHP, Hôpital d'Enfants Armand TROUSSEAU, Paris, France
17. Service de Pédiatrie Médicale, Hôpital Pellegrin - CHU Bordeaux, Bordeaux, France
18. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble, Inserm U836, Grenoble Institut Neurosciences, La Tronche, France

Les pathologies mitochondriales sont très hétérogènes tant sur le plan clinique que moléculaire car liées à des mutations de l'ADN mitochondrial (ADNmt) ou à des mutations de l'ADN nucléaire. Actuellement, le diagnostic est principalement basé sur une recherche ciblée des mutations les plus fréquentes de l'ADNmt en fonction de signes cliniques évocateurs. Dans la plupart des cas, cette recherche est négative. A ce jour, il n'existe pas de données concernant la prévalence des mutations rares de l'ADNmt dans ces pathologies.

Notre étude a pour but d'évaluer la fréquence des mutations rares de l'ADNmt, après exclusion des anomalies les plus fréquentes, et de caractériser les tableaux cliniques associés. Il s'agit de la première étude exhaustive de l'ADNmt réalisée à partir d'une grande cohorte de 734 patients recrutés dans 10 centres français dans le cadre d'un PSTIC. Les critères d'inclusion étaient: 1- signes cliniques et/ou biochimiques et/ou histologiques évocateurs d'une maladie mitochondriale, 2- absence d'une délétion unique et des mutations 3243, 8344 et 8993 de l'ADNmt. Dans cette population, l'âge des patients varie de 0 à 79 ans et le sexe ratio est de 1,14. Dans 50,3% des cas, les premiers symptômes sont apparus avant 12 mois, dans 25,9% des cas entre 1 et 18 ans et dans 23,8% des cas après 18 ans.

La recherche de mutations hétéroplasmiques par la technique Surveyor a permis d'identifier 29 mutations pathogènes déjà décrites (4%) et 85 variants potentiellement pathogènes (11,5%) : régions codantes (51/85), ARN de structure (34/85).

Parmi l'analyse de la population avec mutations déjà décrites, les premiers signes sont apparus avant 18 ans dans 76% des cas. Dans les débuts avant 12 mois (24%), tous les enfants ont une atteinte neuromusculaire, une hyperlactacidémie et une IRM cérébrale anormale (atteinte des

noyaux gris centraux, du tronc cérébral, de la substance blanche, « pseudo-stroke », atrophie cérébelleuse). Le complexe I est majoritairement déficitaire.

Dans les débuts entre 1 et 18 ans, l'atteinte oculaire (rétinite pigmentaire, atrophie optique, cataracte) est très fréquente (60% des cas). Le complexe I est également majoritairement déficitaire (isolé ou non). En cas de début à l'âge adulte, les atteintes auditives ou neurologiques associées ou non à une atteinte musculaire sont prépondérantes et l'anomalie la plus fréquemment retrouvée à l'IRM est une atrophie cérébelleuse. Aucun patient n'a d'hyperlactatémie mais tous présentent un déficit de la chaîne respiratoire incluant le complexe I isolé ou non.

Une analyse détaillée de cette cohorte est en cours. Les premiers résultats montrent : 1- l'importance de réaliser une étude exhaustive de l'ADNmt lorsque les anomalies les plus fréquentes ont été exclues puisqu'une mutation connue ou potentiellement pathogène est retrouvée dans 15,5% des cas, 2- que les mutations rares de l'ADNmt entraînent une apparition des premiers symptômes dans l'enfance dans 3/4 des cas.

session simultanée 6
Thème 6. Dépistage, conseil génétique et éthique

DECLIN DANS L'INCIDENCE DE LA MUCOVISCIDOSE : RESULTAT D'UNE ETUDE OBSERVATIONNELLE DE 35 ANNEES EN BRETAGNE.

V Scotet (1), I Duguépéroux (1), P Saliou (1), G Rault (2), M Roussey (3), MP Audrézet (4), C Férec (1)

1. U613, Inserm, Brest, France
2. CRCM, Centre de Perharidy, Roscoff, France
3. CRCM, CHU, Rennes, France
4. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU, Brest, France

Introduction : La mucoviscidose est une maladie génétique autosomale récessive dont l'incidence a longtemps été estimée à 1/2500 naissances dans les populations Caucasiennes. La mise en place des programmes de dépistage néonatal de cette maladie permet désormais d'assurer un meilleur suivi de l'incidence, ce qui est essentiel pour pouvoir réaliser des prévisions fiables quand à l'évolution de la maladie. L'objectif de notre étude était d'étudier l'évolution de l'incidence de la mucoviscidose sur une longue période (35 ans: 1975-2009) dans une région où cette maladie est fréquente (Bretagne) et où un programme de dépistage néonatal est pratiqué depuis plus de 20 ans.

Méthodes : L'étude inclut tous les patients atteints de mucoviscidose nés en Bretagne entre le 1er Janvier 1975 et le 31 Décembre 2009 (n=483). Un programme de dépistage néonatal de la mucoviscidose étant en place depuis 1989, les patients nés depuis cette date ont été recensés de manière aisée en consultant les données de l'organisation en charge de ce programme. Les patients nés avant la mise en place du programme de dépistage ont été recensés de manière active en croisant différentes sources de données et en réalisant des études de capture-recapture. Les tendances temporelles dans l'incidence ont été analysées à l'aide d'un modèle de régression de Poisson et ont été exprimées à l'aide de l'indicateur APC (Average Percent Change), qui représente le pourcentage de changement dans l'incidence entre deux périodes données.

Résultats : Le nombre de patients nés chaque année en Bretagne est passé en moyenne de 18,6 à la fin des années 1970 (période 1975-1979) à 11,6 aujourd'hui (période 2005-2009). Le taux d'incidence a ainsi chuté de 1/1983 (IC à 95% : [1/2430 ; 1/1618]) à 1/3268 (IC à 95% : [1/5559 ; 1/1922]) entre ces deux périodes, ce qui représente une baisse de près de 40 % (APC : -39,3% ; IC à 95% : [-56,3% ; -15,8%] ; p=0,0028). L'examen plus approfondi des données a révélé un net point de cassure dans le taux d'incidence à la fin des années 1980 (le changement le plus significatif étant observé lorsque l'année 1990 était considérée comme seuil, p inf. à 0,0001). Le taux d'incidence semble toutefois rester relativement stable depuis cette date (APC annuel : -1,0% ; IC à 95% : [-3,2% ; 1,3%] ; p=0,3960).

Conclusion : Cette étude fournit une image précise de l'évolution de l'incidence d'une maladie génétique sur une longue période et illustre la manière dont elle est influencée par les politiques de santé mises en œuvre. Nous avons observé une baisse de 40 % dans l'incidence de la mucoviscidose dans notre région qui semble coïncider avec la disponibilité du test de diagnostic prénatal.

session simultanée 7
Thème 7.Développement et foetopathologie

ALTERATIONS NON CODANTES A GRANDE DISTANCE DU LOCUS SOX9 DANS DES DESORDRES ISOLES DU DEVELOPPEMENT SEXUEL ET LA SEQUENCE DE PIERRE ROBIN

C Attanasio (1), S Benko (2), C Gordon (2), D Mallet (3), C Thauvin-Robinet (4)

1. Genomics Division, Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, USA
2. INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
4. Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon, France

Les mutations de séquences codantes du gène SOX9 conduisent à la dysplasie campomélique (DC), un syndrome avec anomalies squelettiques et réversion sexuelle (DSDs), reflétant les rôles essentiels de SOX9 dans la chondrogénèse et le développement testiculaire. Des altérations non codantes, translocation ou délétions, dans un domaine de 1,4 Mb en amont de SOX9, peuvent récapituler le phénotype DC, suggérant une région de contrôle d'expression en cis inhabituellement vaste. Cet intervalle est riche en séquences conservées, dont certaines ont les propriétés de régulateurs spécifiques de tissu, gouvernant l'expression dans un domaine restreint du patron de SOX9.

Dans certaines formes isolée, sporadiques ou familiales, de séquence de Pierre Robin (PRS), un endophénotype de la DC, nous avons cartographié un locus 1,1-1,4 Mb en amont de SOX9, où nous avons identifié deux enhancers crânio-faciaux. Nous rapportons ici deux nouvelles délétions : i) dans une famille PRS avec pectus excavatum, permettant de réduire la région minimale critique PRS à un domaine de 68kb qui ne contient pas les enhancers précédemment décrits, ii) plus petite (~6 kb) et plus proche de SOX9 dans une autre famille où ségrègent PRS et surdité. Ces données suggérant la présence d'autres régulateurs, nous avons entrepris une analyse génomique globale en ChIP-Seq qui nous a permis d'identifier une collection de sites p300 (associés aux enhancers) dans les tissus crânio-faciaux en développement. Plusieurs sites sont conservés et localisés en amont de SOX9, en particulier dans les nouvelles délétions PRS ; nous les avons validés comme enhancers en essai transgénique, et leur séquence dans des cas sporadiques de PRS a déjà révélé des variants rares.

Nous avons aussi testé la possibilité que des patients avec DSD isolé (46,XY or 46,XX) puissent avoir des CNVs qui perturbent l'expression de SOX9 de manière restreinte aux gonades, sans altérer le développement squelettique ou crânio-facial. Nous avons identifié des duplications dans trois cas de DSD 46,XX, et une délétion dans un cas de DSD 46,XY. Ces altérations en chevauchent d'autres, rapportés récemment, et permettent de définir une région minimale critique de ~78 kb, à ~0.5 Mb en amont des séquences codantes de SOX9. Cette région est donc candidate pour abriter des régulateurs spécifiques de testicules. Mais des mécanismes plus complexes, impliquant par exemple des remaniements chromatiniens à grande échelle dans le désert génique en amont de SOX9, sont aussi possibles ; en effet, des duplications plus vastes, décrites dans le syndrome brachydactylie-anonychie, ne conduisent à aucune perturbation de la détermination sexuelle. Globalement, ces résultats ajoutent un degré de complexité à notre connaissance des mécanismes gouvernant la régulation transcriptionnelle à distance de SOX9.

session simultanée 7
Thème 7.Développement et foetopathologie

ANOMALIES RENALES PRENATALES SEVERES ASSOCIEES A DES MUTATIONS HNF1B, PAX2 ET EYA1

L MADARIAGA (1), V MORINIERE (2), C ANTIGNAC (3), T ATTIÉ-BITACH (4), R Salomon (5), L HEIDET (6)

1. Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Necker, Paris, France
2. Département de Génétique, Hôpital Necker, Paris, France
3. Département de Génétique, Inserm U983, Université Paris Descartes, Hôpital Necker, Paris, France
4. Histologie-embryologie-cytogénétique, Hôpital Necker, Paris, France
5. Néphrologie Pédiatrique, Inserm U983, Université Paris Descartes, Hôpital Necker, Paris, France
6. Centre de référence MARHEA, Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Necker, Paris, France

Introduction:
Les mutations des gènes HNF1B, PAX2 et EYA1/SIX1 peuvent être associés à des anomalies congénitales plus ou moins sévères des reins et des voies urinaires, et parfois à une anomalie d'autres organes.
L'objectif de cette étude est d'estimer la prévalence de ces mutations sur une série de 82 foetus avec une atteinte rénale prénatale sévère ayant justifié une interruption médicale de grossesse, ainsi que de décrire les anomalies extra-rénales associées et de rechercher des corrélations phénotype- génotype.
Patients:
La sévérité de la maladie rénale était appréciée dans chaque centre grâce à des critères échographiques et, dans quelques cas, par la mesure de la β2 microglobuline dans le sérum fœtal. L'examen foetopathologique a été réalisé dans 76 cas, permettant de décrire les lésions rénales à l'echelle histologique et faire le bilan exhaustif des anomalies associées.
Soixante quinze fœtus ont eu une analyse du gène HNF1B : 57 fœtus avec des reins hyperéchogènes ou une dysplasie multikystique bilatérale ou une hypodysplasie kystique (dont 12 cas avec une agénésie unilatérale), et 18 fœtus avec une agénésie bilatérale. Nous avons identifié une mutation dans 8 cas: 4 délétions complètes hétérozygotes et 4 mutations ponctuelles hétérozygotes. La mutation était héritée dans 3 cas et apparaissait de novo dans 3 autres (dans 2 cas les parents n'ont pas été testés).
Vingt et un fœtus eu une analyse du gène PAX2 : ils avaient une hypodysplasie rénale et/ou des signes extrarénaux évocateurs et/ou une histoire familiale. Nous avons identifié une mutation ponctuelle dans 4 cas, héritée dans 3 cas. Le père du 4eme fœtus est probablement porteur de la mutation à l'état de mosaïque.
Quatre fœtus eu une analyse du gène EYA1 : ils avaient une hypoplasie rénale, des anomalies extrarénales et/ou une histoire familiale compatible. Nous avons identifié une mutation dans 2 cas. Le gène SIX1 a été analysé chez les 2 autres fœtus chez qui le diagnostic était évoqué, sans mutation identifiée.
Nous rapportons la description des anomalies rénales et extra-rénales chez ces fœtus, ainsi que les caractéristiques familiales dans les cas hérités.

Conclusion:
Il s'agit de la plus grande cohorte de fœtus avec des anomalies rénales sévères chez lesquels une cause moléculaire a été recherchée. Cette étude confirme que les formes sévères peuvent être associées à des mutations des gènes HNF1B, PAX2 ou EYA1 et que les mutations HNF1B sont les plus fréquentes, responsables de 10% des cas dans notre série. Le phénotype rénal n'était pas corrélé à la nature ou à la localisation de la mutation. En raison de la grande variabilité phénotypique le conseil génétique dans les formes familiales est difficile.

session simultanée 7
Thème 7.Développement et foetopathologie

LE GENE NHEJ1 EST NECESSAIRE AU DEVELOPPEMENT DU CORTEX CEREBRAL.

B EL WALY (1), E BUHLER (2), M HADDAD (1), F WATRIN (2), L VILLARD (1)

1. Inserm, U910, Faculté de Médecine de La Timone., Marseille, France
2. Inserm, U901, Institut de Neurobiologie de la Méditerranée, Marseille, France

Le gène NHEJ1 (Non homologous end joining 1) est un gène qui intervient dans la réparation de la cassure double brin de l'ADN.

Les mutations de ce gène provoquent une immunodéficience associée à une microcéphalie et un retard de croissance.

Nous avons identifié une translocation équilibrée qui interrompt le gène NHEJ1 chez un foetus présentant un cortex cérébral polymicrogyrique (Cantagrel et al. 2007). Nous avons montré que le gène NHEJ1 est préférentiellement exprimé dans les zones ventriculaires et sous ventriculaires du néocortex.

Nous étudions désormais l'effet de la diminution d'expression du gène NHEJ1 sur le développement du cortex cérébral. Nous avons injecté des shRNA dirigés contre Nhej1 dans des cerveaux de rat pendant le développement en utilisant l'électroporation in utero, pour observer les effets d'une inactivation de ce gène à différents stades.

Nous avons montré que la diminution d'expression de Nhej1 perturbe la migration neuronale et conduit à la désorganisation des couches corticales externes.

La désorganisation des couches externes est causée par la disparition des neurones électroporés dans les stades précoces de la vie postnatale. Cette disparition a été confirmée grâce à la détection d'une mort cellulaire massive in vitro et in vivo lorsque Nhej1 est inactivé.

Nos résultats indiquent que les neurones incapables de réparer correctement les cassures double brin de l'ADN au cours de leur migration, entrent en apoptose, n'atteignent pas leur destination finale et conduisent à la formation d'un cortex cérébral désorganisé. Ces résultats expliquent vraisemblablement la microcéphalie sévère observée chez les patients qui portent une mutation dans le gène NHEJ1 et ils indiquent que le gène NHEJ1 est important pour le développement normal du cortex cérébral.

session simultanée 7
Thème 7.Développement et foetopathologie

NOTCH, UNE NOUVELLE VOIE DE SIGNALISATION IMPLIQUEE DANS HOLOPROSENCEPHALIE

L RATIE (1), V DUPE (1), I GICQUEL (1), S MERCIER (1), C DUBOURG (2), S ODENT (3), V DAVID (1)

1. UMR 6061 CNRS, IGDR, Faculté de Médecine, Université Rennes1, RENNES, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Pontchaillou, RENNES, France
3. Service de Génétique Clinique, CHU Hopital Sud, RENNES, France

L'holoprosencéphalie (HPE) est une malformation congénitale du cerveau embryonnaire due à un défaut de clivage du prosencéphale au cours du développement précoce. Quatorze gènes ont déjà été mis en cause dans cette pathologie et il est maintenant admis que l'apparition de l'HPE nécessite la conjonction de plusieurs anomalies moléculaires impliquant des gènes appartenant à différentes voies de signalisation. Les voies de signalisation SHH et NODAL sont classiquement présentées comme les voies majeures dans l'HPE, ainsi que la voie FGF dans une moindre mesure.

L'analyse par CGH array d'une cohorte de 260 patients atteints d'HPE a mis en évidence 4 réarrangements de taille variable dans la région 6 qter et a conduit à l'identification d'un nouveau gène candidat pour l'HPE, DELTA like 1 ou DLL1, codant un des ligands de NOTCH. Nous avons décrit une mutation de DLL1 chez un de nos patients HPE et montré que DLL1 était exprimé dans le cerveau antérieur de l'embryon de poulet et co-exprimé dans le neuropore antérieur avec Fgf8, un des gènes majeurs pour le développement du cerveau antérieur.

Nous avons donc mis en œuvre plusieurs stratégies pour prouver l'implication de la voie NOTCH dans l'HPE. En effet, si cette voie est bien connue pour son rôle dans la neurogenèse et la somitogenèse, son lien avec le développement précoce du cerveau antérieur et l'holoprosencéphalie n'a jamais été décrit. Nous avons mis en place un système de culture d'embryons de poulet ex ovo et utilisé des inhibiteurs pharmacologiques connus pour bloquer spécifiquement les différentes voies de signalisation.

Le blocage de la voie Fgf par un inhibiteur pharmacologique, le SU 5402, entraine une diminution d'expression de Dll1 dans le cerveau antérieur. Ensuite, le blocage de la voie Notch par le DAPT a été suivi d'une analyse transcriptomique sur puces à ADN spécifiques et a montré que les cibles de Notch voyaient leur expression varier dans le sens attendu, validant ainsi la méthodologie employée. Cette étude transcriptomique montre aussi la variation d'expression de nouveaux gènes avec une localisation intéressante au niveau du cerveau précoce. De plus, nous observons une diminution importante de l'expression de Shh, le gène majeur de l'holoprosencéphalie, ce qui vient confirmer l'implication de Notch dans l'HPE.

Ces travaux donnent d'importants arguments fonctionnels pour considérer la voie Notch comme une nouvelle voie de signalisation dans le développement précoce du cerveau antérieur de même que dans l'apparition de l'holoprosencéphalie.

session simultanée 7
Thème 7.Développement et foetopathologie

PHENOTYPE FŒTAL DU SYNDROME DE SYNDROME SMITH-LEMLI-OPITZ, A PROPOS DE 28 CAS
PHENOTYPIC SPECTRUM OF FETAL SMITH-LEMLI-OPITZ SYNDROME, ABOUT 28 CASES

C Quélin (1), P Loget (2), C Jeanne-Pasquier (3), T Attié-Bitach (4), MC Aubry (5), A Bazin (6), B Bessières (4), JA Bournazeau (7), O Boute (8), R Bouvier (9), B Carbonne (10), F Chevy (11), A Clemenson (12), MP Cordier (13), D D'Herve (14), A David (15), P Dechelotte (16), S Delahaye (17), L Devisme (18), A Dieux (8), F Dijoud (9), F Encha-Razavi (4), C Francannet (19), D Gaillard (20), A Goldenberg (21), R Grigorescu (22), N Gruchy (23), T Harvey (24), B Jacob (3), F Jossic (25), JM Jouannic (17), M Joubert (25), N Joyé (22), A Laquerrière (26), H Le Guern (27), N Leporrier (23), G Macé (10), F Michel (28), S Odent (1), S Patrier (29), F Pelluard (30), O Rigal (31), H Salhi (32), R Touraine (33), Y Ville (34), G Viot (5), C Wolf (11), C Wong (35), P Benlian (36), M. Gonzales (22)

1. Service de Génétique Clinique, Hôpital Sud, Rennes, France
2. Laboratoire d'Anatomopathologie, Hôpital Pontchaillou, Rennes, France
3. Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Côte de Nacre, Caen, France
4. Département de Génétique, APHP-Necker-Enfants Malades, Paris, France
5. Service de Gynécologie Obstétrique, APHP-Cochin-Saint Vincent de Paul, Paris, France
6. Département de Génétique, Laboratoire Cerba, Saint Ouen L'Aumone, France
7. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôtel Dieu, Clermont-Ferrand, France
8. Service de Génétique Clinique Guy Fontaine, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
9. Centre de Pathologie Est, Hôpitaux de Lyon, Bron, France
10. Service de Gynécologie Obstétrique, APHP-Saint-Antoine, Paris, France
11. ERL INSERM U1057- UMR 7203-UPMC, Université de Paris 6, Paris, France
12. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologique, Hôpital Nord, Saint-Etienne, France
13. Service de Génétique, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France
14. La Sagesse, Clinique Mutualiste, Rennes, France
15. Service de Génétique Clinique, Hôtel Dieu, Nantes, France
16. Anatomie Pathologique Unité de Fœtopathologie, Hôtel Dieu, Clermont-Ferrand, France
17. Service de Gynécologie Obstétrique, APHP-Trousseau, Paris, France
18. Anatomie et Cytologie Pathologiques, Hôpital Calmette, Lille, France
19. Service de Génétique Médicale, Hôtel Dieu, Clermont-Ferrand, France
20. Service de Génétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Maison Blanche, Reims, France
21. Unité de Génétique Clinique, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
22. Unité de Génétique et Embryologie, APHP-Trousseau, Paris, France
23. Service de Génétique, Hôpital Côte de Nacre, Caen, France
24. Maternité, Hôpital des Diaconesses, Paris, France
25. Anatomie et Cytologie Pathologiques, Hôtel Dieu, Nantes, France
26. Laboratoire d'Anatomopathologie, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
27. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Yves Le Foll, Saint Brieuc, France
28. Laboratoire de Biochimie, Hôpital Lapeyronie, Montpellier, France
29. Laboratoire d'Anatomopathologie,, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
30. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques Unité de Pathologie Foetoplacentaire, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France
31. Service de Biochimie-Hormonologie, APHP-Hôpital Robert Debré, Paris, France
32. Unité de Fœtopathologie et d'Anatomie Pathologique Pédiatrique, APHP-Cochin, Paris, France
33. Service de génétique clinique chromosomique et moléculaire, Hôpital Nord, Saint-Etienne, France
34. Service de Gynécologie Obstétrique, APHP-Necker-Enfants Malades, Paris, France
35. Service de Gynécologie Obstétrique, Groupe Hospitalier de Saintes, Saintes, France
36. U4M Biochimie Biologie Moléculaire, CHRU de Lille, Lille, France

Le syndrome de Smith-Lemli-Opitz (SLO) est un syndrome polymalformatif sévère d'origine métabolique qui compte parmi les maladies récessives les plus fréquentes en Europe. Il est dû à des mutations du gène DHCR7, codant pour la 7-déhydrocholestérol réductase, enzyme de l'étape finale de la biosynthèse du cholestérol, qui convertit le 7-déhydrocholestérol en cholestérol. Ce bloc enzymatique est donc responsable d'une baisse de production de cholestérol et d'une accumulation de ses précurseurs (7- et 8-déhydrocholestérol) qui perturbent les étapes précoces du

développement embryonnaire. Le diagnostic se base principalement sur le dosage plasmatique ou tissulaire des précurseurs puis sur l'analyse moléculaire du gène DHCR7. Le spectre phénotypique de cette pathologie est large, allant de formes modérées associant anomalies physiques mineures, problèmes comportementaux et d'apprentissage et troubles de l'alimentation avec survie à l'âge adulte, à des formes sévères avec anomalies congénitales majeures et décès in utero. Les données cliniques post-natales sont bien connues et associent principalement retard de croissance, retard mental, dysmorphie faciale avec microcéphalie, et malformations multiples (des extrémités, génitales, cérébrales, cardiaques, rénales, pulmonaires ou gastro-intestinales). A l'inverse le phénotype fœtal des SLO est moins détaillé dans la littérature. Nous avons donc choisi de rapporter dans ce travail 28 fœtus atteints d'un SLO confirmé sur le plan biochimique et/ou moléculaire afin de préciser les malformations fœtales et d'en améliorer le diagnostic lors de l'examen fœtopathologique et du dépistage échographique. Nous montrons ainsi que la dysmorphie faciale fœtale est tout à fait similaire à celles des enfants et peut être reconnaissable très précocement (étroitesse bitemporale, hypertélorisme, nez court aux narines antéversées, micrognathie, cou court, oreilles basses…). Nous confirmons les principales malformations précédemment rapportées dans la littérature, ainsi que la fréquence des hyperclartés nucales au premier trimestre de la grossesse et des fausses-couches spontanées précoces dans ces familles. Nous rappelons que les anomalies génitales, fréquentes chez les garçons, sont rares chez les sujets 46,XX et précisons que la différenciation des gonades semble toujours en accord avec le sexe chromosomique. Enfin cette étude met l'accent sur certaines malformations a priori moins fréquentes, et rapporte surtout l'existence de malformations précédemment non décrites, telles que l'hypoplasie ulnaire, les anomalies sacrées, les malformations adénomatoïdes kystiques du poumon ou la fusion pulmonaire, le laparoschisis, l'holomyélie ou encore l'hamartome hypothalamique.

session simultanée 7
Thème 7.Développement et foetopathologie

SPECTRE ANTENATAL DU SYNDROME CHARGE: A PROPOS DE 38 FŒTUS AVEC MUTATION DE CHD7 ET EXAMEN FŒTOPATHOLOGIQUE

C Alby (1), T Attie-Bitach (2), A Bazin (3), C Beneteau (4), B Bessières (5), F Bilan (6), M Bonnière (7), M Bucourt (8), C Quelin (9), C Coubes (10), AL Delezoide (11), F Encha-Razavi (2), C Fallet-Bianco (12), M Gérard (13), R Gesny (5), B Gilbert-Dussardier (6), M Gonzales (9), G Goudefroye (5), A Harroche (14), A Ichkou (5), B Isidor (15), F Jossic (16), M Legendre (2), L Loeuillet (17), P Loget (18), D Martin-Coignard (19), J Martinovic (5), MJ Perez (20), L Pinson (20), B Simon-Bouy (21), J Tantau (22), C Thauvin (23), M Vekemans (2), G Viot (5)

1. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France
2. INSERM U-781 et Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Département de fœtopathologie, Hôpital Sainte-Anne, Paris, France
4. Service de Médecine Infantile III et Génétique Clinique, Hôpital d'Enfants CHU de Nancy, Vandoeuvre, France
5. Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
6. Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers, Poitiers, France
7. Département de Génétique, Necker-Enfants Malades, Paris, France
8. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Hôpital Jean Verdier, Paris, France
9. Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
10. Service de Génétique Médicale, Hôpital Armand de Villeneuve, Montpellier, France
11. Service de Biologie du développement, Hôpital Robert Debré, PAris, France
12. Service de Neuropathologie, Hôpital Cochin-Saint-Vincent-de-Paul, Paris, France
13. Unité fonctionnelle de génétique clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
14. Service de pédiatrie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
15. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
16. Département de Fœtopathologie, Hôpital de Nantes, Nantes, France
17. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, CHI Poissy, Saint Germain en Laye, France
18. Cabinet d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Cabinet d'Anatomie et Cytologie Pathologiques Richier, Rennes, France
19. Unité de Génétique Clinique, Centre Hospitalier du Mans, Le Mans, France
20. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
21. 22- Centre d'Étude de Biologie Prénatale, Laboratoire de Cytogénétique, Université de Versailles, Versailles, France
22. Service d'Anatomopathologie, Hôpital Saint-Vincent de Paul, Paris, France
23. 20- Centre de Génétique, Centre de Référence Maladies Rares, Anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'interrégion Est, Hôpital d'Enfants, CHU, Dijon, Dijon, France

Le syndrome CHARGE est une association malformative rare, le plus souvent sporadique, associant un Colobome (C), une cardiopathie (Heart), une Atrésie des choanes (A), un Retard de croissance (R) et des anomalies Génitales (G) et de l'oreille externe (Ear) ou une surdité. Bien que ce syndrome soit désormais bien connu chez l'enfant, une seule série de 10 cas de syndrome CHARGE chez le fœtus a été rapportée à ce jour. Afin de définir au mieux les éléments cliniques, radiologiques et histologiques du syndrome au cours du développement, nous avons étendu l'étude à 38 cas pour lesquels une mutation dans le gène CHD7 a été identifiée et un examen fœtopathologique réalisé.

De manière surprenante, nous avons observé un fort déséquilibre du sexe ratio en faveur des garçons (3/1) et une fréquence augmentée des cardiopathies par rapport aux études postnatales, soulignant l'existence de formes plus sévères chez le garçon. La description de nouveaux éléments cliniques jusqu'alors inconnus dans le syndrome et retrouvés de façon relativement fréquente dans notre série ainsi que la fréquence effondrée dans la cohorte de certains critères diagnostiques appartenant à l'acronyme définissant historiquement le syndrome suggèrent que les critères diagnostics ne sont pas adaptés au fœtus. En effet, plus de 50 % des cas de notre série ne seraient pas retenus comme « CHARGE typique » selon les critères diagnostiques admis pour le syndrome CHARGE en post natal.

L'absence de cardiopathie spécifique du syndrome CHARGE et l'existence de formes atypiques n'ayant pas fait envisager le diagnostic en première intention rappellent la variabilité clinique du syndrome et son chevauchement clinique avec d'autres syndromes qui seront discutés.

Enfin, la présence quasi constante de mutations tronquantes dans notre série fait évoquer une corrélation phénotype génotype.

En conclusion, notre étude sur une grande série de CHARGE fœtaux nous a permis d'établir les critères diagnostics du CHARGE fœtal, de montrer une sévérité augmentée chez le garçon et de définir de nouveaux éléments cliniques du syndrome.

Comme en post-natal, un certain nombre de fœtus répondant aux critères diagnostiques ne sont pas porteurs de mutation ou remaniement intragénique du gène CHD7 et de nouvelles pistes sont proposées pour identifier l'(les) autre(s) base(s) moléculaire(s).

session simultanée 7
Thème 7.Développement et foetopathologie

SCLEROSE TUBEREUSE DE BOURNEVILLE ET RHABDOMYOMES : A PROPOS DE 55 CAS AYANT EU UN EXAMEN FOETOPATHOLOGIQUE

C POIRSIER (1), E ALANIO (2), J AZIZA (3), C BENETEAU (4), R BOUVIER (5), A BUENERD (5), AL DELEZOIDE (6), L DEVISME (7), C JEANNE PASQUIER (8), PS JOUK (9), A LAQUERRIERE (10), L LOEUILLET (11), D ZACHAR (12), R TOURAINE (13), MC MALINGE (14), D GAILLARD (15)

1. Service de Génétique médicale, CHU Maison Blanche, REIMS, France
2. Laboratoire d'anatomie Pathologique, CHU Maison Blanche, REIMS, France
3. Unité de Fœtopathologie, CHU Purpan, TOULOUSE, France
4. Service de Génétique médicale, CHU de Nantes, NANTES, France
5. Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, CHU Edouard Herriot, LYON, France
6. Unité de Fœtopathologie, CHU Robert Debre, PARIS, France
7. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, CHU Jeanne de Flandre, LILLE, France
8. Service d'Anatomie Pathologique, CHU Côte de Nacre, CAEN, France
9. Service de Génétique médicale, CHU de Grenoble, GRENOBLE, France
10. Service d'Anatomie Pathologique, CHU Charles Nicolle, ROUEN, France
11. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, CHI Poissy- Saint Germain en Laye, POISSY, France
12. Service d'Anatomie Pathologique, CHU Maison Blanche, REIMS, France
13. Service de Génétique médicale, CHU de Saint-Etienne, SAINT ETIENNE, France
14. Service de Génétique médicale, CHU D'Angers, ANGERS, France
15. Service de Génétique médicale et Service d'Anatomie pathologique, CHU Maison Blanche, REIMS, France

Le rhabdomyome cardiaque est la plus fréquente des tumeurs cardiaques fœtales et correspond à un signe majeur de sclérose tubéreuse de Bourneville (STB). Les descriptions fœtales sont peu nombreuses et nous nous sommes proposés de faire un étude rétrospective afin de préciser les circonstances diagnostiques des rhabdomyomes, les lésions fœtales associées et la proportion de STB avec les signes spécifiques à la période fœtale.

Méthodes : Cette étude porte sur 55 fœtus âgés de 14 SA à J1 avec rhabdomyomes, ayant fait l'objet d'un examen fœtopathologique macroscopique et histologique, collectés par les membres de la SOFFOET.

Résultats : La majorité des rhabdomyomes a été identifiée par l'échographie prénatale (49/55), mais c'est l'examen fœtopathologique qui a porté le diagnostic pour 6 cas. La plupart des fœtus entraient dans le cadre d'une STB certaine (45/55), soit prouvée génétiquement pour 26 cas, dont seulement 4 avec antécédent familial connu, soit cliniquement par la présence d'un autre signe majeur. Les rhabdomyomes associés à une STB étaient le plus souvent multiples, de taille variable (

session simultanée 7
Thème 7.Développement et foetopathologie

INTERET DE L'EXAMEN FŒTOPATHOLOGIQUE DANS LE DIAGNOSTIC ET LA COMPREHENSION DES MALFORMATIONS CEREBRALES ISOLEES EN ANTENATAL, A PROPOS D'UNE SERIE DE 295 CAS.

H FRANQUET-ANSART (1), S JORIOT (2), V HOUFFLIN (3), MC COPIN (1), L VALLEE (2), G SOTO ARES (4), S MANOUVRIER (5), L DEVISME (1)

1. Institut de Pathologie, CHRU, LILLE, France
2. Service de Neuropédiatrie, CHRU, LILLE, France
3. Diagnostic Prénatal, CHRU, LILLE, France
4. Service de Neuroradiologie, CHRU, LILLE, France
5. Service de Génétique Clinique, CHRU, LILLE, France

L'essor du diagnostic prénatal et les performances de l'imagerie cérébrale prénatale ont permis l'émergence de la neuropathologie fœtale. Notre étude a pour but d'évaluer l'intérêt de l'examen fœtopathologique, incluant l'analyse neuropathologique, dans le diagnostic étiologique des malformations cérébrales isolées en période anténatale.

Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur 295 interruptions médicales de grossesse réalisées pour malformation cérébrale, dépistée et isolée à l'échographie anténatale et/ou à l'IRM fœtale, en excluant les anomalies de fermeture du tube neural. A l'issue de l'examen fœtopathologique complet, des techniques de biologie moléculaire et du conseil génétique, nous avons comparé les résultats obtenus en post natal aux données du diagnostic anténatal. Nous les avons regroupés par signe d'appel échographique et en fonction de l'apport de l'examen fœtopathologique.

Au total, dans 32% des cas, le diagnostic évoqué en prénatal était confirmé en postnatal. Dans 9% des cas, l'examen neuropathologique mettait en évidence des arguments étiologiques, permettant d'étayer le diagnostic initial. Dans 59% des cas, l'examen fœtopathologique apportait des informations supplémentaires, non vues en anténatal et modifiant le diagnostic suspecté. Il permettait alors de conclure à une pathologie connue dans 39% des cas. Des malformations externes ou viscérales étaient découvertes à l'examen foetopathologique dans 20% des cas. Les syndromes polymalformatifs non identifiés représentaient 9% des observations. 11% des dossiers correspondaient à des malformations cérébrales complexes n'entrant pas dans un cadre nosologique connu. Pour les syndromes d'origine génique, le taux de mutations, recherchées en fonction du diagnostic fœtopathologique, était élevé (83 à 90% selon les pathologies).

Nos résultats démontrent l'importance de la prise en charge multidisciplinaire et de l'examen fœtopathologique pour le diagnostic des malformations cérébrales fœtales. Nous avons ainsi constaté qu'une même entité pathologique pouvait être révélée par des signes d'appel échographiques différents. L'examen morphologique détaillé du fœtus, incluant le cerveau, est indispensable au conseil génétique. Il permet notamment l'orientation très précise des examens complémentaires, telles que les analyses génétiques, longues et coûteuses. A l'avenir, les progrès de la biologie moléculaire devraient permettre d'arriver à un diagnostic précis dans un plus grand nombre d'observations.

session simultanée 8
Thème 8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

EPISSAGE ALTERNATIF ASSOCIE AUX CODONS STOP PREMATURES : IMPLICATIONS POUR LES THERAPIES PAR TRANSLECTURE DE LA MUCOVISCIDOSE

A Hinzpeter (1), A Aissat (1), A de Becdelièvre (1), C Costa (2), N Martin (1), E Sondo (3), B Costes (1), M Goossens (2), LJ Galietta (3), E Girodon (2), P Fanen (1)

1. Inserm U955, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
2. Service de Biochimie-Génétique, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
3. Laboratorio di Genetica Molecolare, Istituto G. Gaslini, Genova, Italie

Environ 30% des allèles responsables de maladies génétiques génèrent des codons de terminaison prématurés (PTC) qui sont habituellement associés à des phénotypes sévères. Cependant, contourner le codon stop délétère peut conduire à une évolution bénigne de la maladie.

De nouvelles molécules conduisant à la translecture de ces codons sont actuellement en essai clinique tel l'Ataluren (PTC124™) dans le traitement de la mucoviscidose ou de la dystrophie musculaire de Duchenne. L'efficacité de ce traitement dépend de deux principaux paramètres : nature du codon stop et de son contexte nucléotidique d'une part et abondance du transcrit liée à l'effet du nonsense-mediated mRNA decay (NMD) d'autre part. Mais il est maintenant bien établi qu'un PTC peut conduire à des transcrits alternatifs qui ne contiennent pas le codon stop prématuré.

Nous avons décrit un nouveau mécanisme d'élimination de codon stop par épissage alternatif en un site accepteur en tandem NAGNAG. En effet, nous avons identifié ce mécanisme à l'origine du phénotype très modéré observé chez des patients homozygotes pour la mutation E831X dans l'exon 14a du gène CFTR. L'analyse des ARNm de cellules épithéliales nasales d'un patient a détecté trois isoformes correspondant à une forme excluant l'exon 14a (76% ± 2%), une forme complète contenant le PTC (16% ± 2%) et une forme où seuls les trois nucléotides du codon stop sont délétés (deltaE831, 8% ± 0.8%). Ce profil observé in vivo est lié directement à la mutation comme nous avons pu le confirmer in vitro à l'aide de minigènes. Des études structure-fonction de ces trois isoformes ont ensuite montré que seule la protéine codée par le transcrit deltaE831 produisait une protéine fonctionnelle expliquant le phénotype très modéré observé chez les patients homozygotes pour cette mutation.

Dans le contexte E831X, le transcrit contenant le codon stop peut être corrigé par traitement au G418 ce qui conduit à une production de protéine CFTR mature. Nous avons recherché si l'élimination d'un codon stop par épissage alternatif était un mécanisme plus général et avons testé les six PTC identifiés chez des patients dans l'exon 14a du gène CFTR. Parmi ces six PTC, quatre sont associés à un épissage alternatif conduisant à un saut de l'exon 14a lié à l'interruption de motif ESE (exon splicing enhancer). Nous avons donc testé des drogues connues pour modifier le choix du site d'épissage alternatif et montré que certaines pouvaient moduler ce choix.

L'ensemble de ces résultats montrent qu'un niveau inférieur de transcrits corrigeables par translecture peut provenir d'un mécanisme d'épissage alternatif et qu'il serait donc nécessaire de combiner un traitement modifiant le choix de site d'épissage afin d'augmenter l'efficacité de la translecture. Comprendre le mécanisme moléculaire associé aux mutations non sens est donc primordial pour choisir l'approche thérapeutique la plus appropriée.

session simultanée 8
Thème 8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

LE DYSFONCTIONNEMENT DE LA PROTEINE FLNA PROVOQUE UNE DESORGANISATION DE LA GLIE RADIAIRE CONDUISANT A UNE HETEROTOPIE PERIVENTRICULAIRE.

A GLIAL ORIGIN FOR PERIVENTRICULAR NODULAR HETEROTOPIA CAUSED BY IMPAIRED EXPRESSION OF FILAMIN-A.

A Carablona (1), S Beguin (1), E Pallesi-Pocachard (1), E Buhler (2), C Pellegrino (1), K Arnaud (1), P Hubert (3), M Oualha (3), JP Siffroi (4), I Coupry (5), C Goizet (5), A Bernabe Gelot (6), A Represa (1), C Cardoso (1)

1. INMED - INSERM U901, Parc Scientifique de Luminy, Marseille, France
2. INMED - PPGI, Parc Scientifique de Luminy, Marseille, France
3. Réanimation Pédiatrique et de Néonatologie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
4. Génétique et d'Embryologie Médicales, Hôpital A. Trousseau, Paris, France
5. Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme, Université Bordeaux, Bordeaux, France
6. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Hôpital A. Trousseau, Paris, France

L'hétérotopie nodulaire périventriculaire (HNP) est une malformation cérébrale qui consiste en l'apparition de nodules ectopiques de neurones dans la substance blanche. Ces nodules dont la taille peut varier de quelques millimètres à plusieurs centimètres, sont composés de neurones identifiés comme matures lors de leur analyse en imagerie fonctionnelle. Sur le plan clinique, l'HNP est associée à de l'épilepsie et parfois à une déficience mentale plus ou moins sévère. Les HNP sont beaucoup plus fréquentes chez les femmes, sous la forme d'une affection bilatérale lié au chromosome X qui chez presque tous les mâles est souvent létale dès la période prénatale. On estime que 100% des familles présentant une HNP liée à l'X et environ 26% des cas sporadiques ont une mutation du gène FLNA (Xq28), dont plus d'une cinquantaine sont connues à ce jour. D'un point de vue physiopathologique, les diverses études fonctionnelles des protéines FLNA mutantes n'ont pas permis d'élucider les mécanismes à l'origine du retard mental ni de l'épilepsie. L'absence de modèles animaux appropriés a également été un frein à une meilleure compréhension dans ce domaine. Afin d'étudier les conséquences fonctionnelles d'un dysfonctionnement du gène FlnA in vivo, nous avons choisi de créer un nouveau modèle, chez le rat, par ARN interférence (RNAi). Contrairement à l'invalidation génique par knockout de la FLNA qui n'avait donné aucun résultat significatif nous avons réussi par RNAi in utero à créer un modèle animal d'HNP. Sur ce dernier, nous avons pu étudier la formation des nodules ectopiques au cours du développement et analyser leurs organisations et compositions cellulaires. Au stade embryonnaire, il semblerait que les nodules se forment suite à une perte d'adhérence des cellules de la glie radiaire à leur pôle apical. Cette désorganisation de la glie radiaire altère la progression des précurseurs neuraux dans le cycle cellulaire et empêche les neurones de migrer correctement de la zone ventriculaire vers la plaque corticale. Chez des ratons de 7 ou 15 jours, nous avons identifié des nodules hétérotopiques présentant une organisation laminaire très rudimentaire contenant des neurones des couches profondes et superficielles, des astrocytes et des interneurones. Des études réalisées sur des cerveaux humains post-mortem de différents âges présentant une HNP liée à une mutation FLNA, nous ont permis de montrer que les amas de neurones ectopiques se forment également suite à une désorganisation de la glie radiaire au niveau de la paroi ventriculaire. Enfin, nous avons mis en évidence une grande susceptibilité de notre modèle animal d'HNP à déclencher plus rapidement et plus fréquemment des crises d'épilepsie sous l'effet de certains agents convulsivants par rapport à des animaux contrôles. En conclusion, nos données suggèrent que la cause primaire de l'HNP est une désorganisation de la glie radiaire et que les anomalies de migration sont une conséquence de cette altération.

session simultanée 8
Thème 8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

LA MODIFICATION DU DOSAGE DE MECP2 ALTERE LE TRANSPORT AXONAL VIA HUNTINGTINE/HAP1.

JC Roux (1), D Zala (2), N Panayotis (1), A Borges-Correia (1), F Saudou (2), L Villard (1)

1. INSERM U910/Aix-Marseille Université, Faculté de Médecine de La Timone, Marseille, France
2. Institut Curie/CNRS UMR3306/INSERM U1005, Faculté d'orsay, Orsay, France

Le Bdnf (Brain-derived neurotrophic factor) est une neurotrophine. Son action favorise la survie neuronale, promeut la différenciation axonale et dendritique, la maturation et la plasticité des synapses. L'expression du Bdnf fait l'objet d'une régulation précise dépendant du niveau d'activité neuronale et impliquant un mécanisme dynamique contrôlé, entre autre, par Mecp2. La souris Mecp2-/y est un modèle du syndrome de Rett. Elle présente des déficits important en Bdnf. En retour, la surexpression de Bdnf chez l'animal Mecp2-/y induit une amélioration considérable de son phénotype. Plusieurs arguments plaident en faveur du rôle du Bdnf dans l'apparition et la progression des troubles Mecp2-dépendants. L'étude du transcriptome de bulbe rachidien de souris Mecp2-déficiente nous a permis de caractériser un ensemble de gènes dérégulés, parmi lesquels plusieurs gènes impliqués dans la régulation du transport axonal du Bdnf. Nous avons particulièrement étudié deux d'entre eux, Htt et Hap1 qui codent pour des protéines directement impliquées dans le transport axonal du Bdnf et connues pour être impliquées dans la chorée de Huntington. La protéine Bdnf est libérée dans le striatum par voie antérograde. Chez les animaux Mecp2-/y, la protéine Bdnf est moins présente au niveau de cette structure cible, ce qui suggère un défaut de transport des vésicules de Bdnf. Afin de vérifier l'impact de Mecp2 sur le transport axonal du Bdnf nous avons utilisé un modèle cellulaire permettant de suivre par vidéo-microscopie le trajet et calculer la vitesse du transport axonal antérograde et rétrograde dans des neurones corticaux de rat. Nos résultats indiquent que la réduction et la surexpression de Mecp2 ont toutes les deux un impact négatif sur le transport antérograde et rétrograde du Bdnf le long des microtubules. Le gène du Bdnf étant une cible de Mecp2, nous avons étudié une autre protéine, App, qui n'est pas une cible de Mecp2. Nous avons montré que le transcrit et la protéine App sont normaux chez les souris Mecp2-/y. Cependant, le transport d'App, qui est Htt- et Hap1-dépendant, est considérablement réduit dans un contexte déficient pour Mecp2. Enfin, nous avons montré qu'un traitement oral par la cysteamine, une molécule capable de stimuler le remplissage et la libération des vésicules de Bdnf, améliore de manière significative la survie et la motricité des animaux Mecp2-/y. Cette étude démontre qu'une part non négligeable du déficit en Bdnf observé dans les neurones Mecp2-déficients résulte d'un déficit de la dynamique de transport des vésicules synaptiques de BDNF. Nos résultats suggèrent que l'atteinte du transport axonal ne se limite pas à cette neurotrophine mais pourrait concerner d'autres protéines dont le transport le long des microtubules est régulé par les protéines Htt et Hap1.

session simultanée 8
Thème 8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

UN NOUVEAU MODELE MURIN DE LA PROGERIA DE HUTCHINSON-GILFORD PERMET DE CIBLER L'EPISSAGE ANORMAL ET D'AMELIORER LE PHENOTYPE PROGEROÏDE PAR MORPHOLINOS ANTISENS

C Navarro (1), F Osorio (2), J Cadinanos (2), C Bartoli (1), I Varela (2), D Depetris (1), F de Carlos (3), J Cobo (3), P Roll (4), P Cau (4), V Andres (5), A De Sandre-Giovannoli (4), JMP Freije (2), N Lévy (4), C Lopez-Otin (2)

1. Aix-Marseille Université, Inserm UMR_S 910, Faculté de Médecine la Timone, Marseille, France
2. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Instituto Universitario de Oncología, Universidad de Oviedo, Oviedo, Espagne
3. Departamento de Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas and Instituto Asturiano de Odontología, Universidad de Oviedo, Oviedo, Espagne
4. Aix-Marseille Université, Inserm UMR_S 910, AP-HM, Département de Génétique Médicale et biologie cellulaire, Faculté de Médecine la Timone, Hopital Enfant de la Timone, Marseille, France
5. Departamento de Epidemiología, Aterotrombosis e Imagen, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares, Madrid, Espagne

La Progeria de Hutchinson-Gilford est une maladie très rare caractérisée par un vieillissement prématuré et accéleré, due à une mutation ponctuelle du gène LMNA (p.G608G) qui active un site d'épissage cryptique et induit la production d'une forme tronquée de la Prélamine A appelée Progerine. Cette protéine anormale reste farnésylée de façon aberrante et s'accumule de façon ubiquitaire dans les noyaux cellulaires, où elle exerce de multiples effets toxiques de façon dose-dépendante. Nous avons généré et caractérisé un nouveau modèle de souris knock-in portant la mutation équivalente à la mutation humaine (p.G609G) au niveau du gène Lmna endogène. Les souris mutées reproduisent fidèlement le défaut moléculaire transcriptionnel et protéique observé chez les patients, produisant la Progerine, et présentent des anomalies histologiques et phénotypiques caractéristiques mimant les anomalies cliniques majeures observées chez les patients atteints de Progeria.

La durée de vie des souris KI homozygotes LmnaG609G/G609G est très réduite, de même que les anomalies osseuses et cardiovasculaires sont au premier plan. Les mêmes anomalies sont observées chez les hétérozygotes LmnaG609G/+ mais d'apparition plus tardive et moins sévère. Nous avons testé sur ce modèle une approche antisens utilisant des oligonucléotides "vivo-morpholinos" permettant de cibler le site d'épissage cryptique, réduire très significativement son utilisation, et par conséquent les quantités de Progerine produite. Cette approche a permis in vitro de réduire les anomalies cellulaires caractéristiques de la maladie et, in vivo, d'améliorer substantiellement le phénotype progéroïde des souris mutées, tout en rallongeant de façon très significative leur durée de vie. Ces travaux constituent donc une preuve de principe préclinique quant à la possibilité d'utiliser des approches thérapeutiques de type antisens dans le traitement de la Progeria de Hutchinson-Gilford.

Parallèment à ces travaux, une recherche est en cours afin de tester des voies alternatives à la voie IV, pour l'administration des antisens, tout en respectant la bio-distribution et bio-disponibilité des molécules administrées, et permettre d'envisager un essai clinique dans les conditions les moins invasives possibles.

session simultanée 8
Thème 8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

IDENTIFICATION D'UN BIOMARQUEUR ENERGETIQUE CEREBRAL PAR SPECTROSCOPIE RMN-31P CHEZ DES PATIENTS A UN STADE PRECOCE DE LA MALADIE DE HUNTINGTON

F Mochel (1), TM Nguyen (2), D Rinaldi (3), D Deelchand (4), R Valabregue (5), C Wary (6), P Carlier (6), A Durr (1), PG Henry (5)

1. Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Inserm UMRS 975, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. UF Neurométabolique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Center for Magnetic Resonance Research, University of Minnesota, Minneapolis, USA
5. Centre de NeuroImagerie de Recherche, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
6. Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

INTRODUCTION: La maladie de Huntington (MH) est une maladie autosomique dominante neurodégénérative due à l'expansion pathologique de CAG dans le gène HTT codant la protéine huntingtine (Htt). Il existe de nombreux arguments en faveur de l'existence d'un déficit énergétique dans la MH, à la fois central et périphérique (Mochel et Haller, 2011), notamment par interférence trancriptionnelle de la Htt mutée avec PGC-1a, un co-activateur transcriptionnel régulateur de la biogénèse mitochondriale. Ainsi, l'étude de la perte de poids associée à la MH nous a permis d'identifier (i) un hypercatabolisme au stade présymptomatique de la MH (Mochel et al 2007), (ii) un biomarqueur plasmatique – une baisse d'acides aminés ramifiés plasmatiques (Mochel et al 2007 & 2011), et (iii) une cible thérapeutique mitochondriale au niveau du cycle de Krebs (Mochel et al 2010). Grâce à un système de fixation cérébrale par microondes, nous avons récemment démontré l'existence d'un déficit énergétique cérébral dans 3 modèles murins de MH caractérisé par une baisse d'ATP associée à une sous-utilisation du pool cérébral de phosphocreatine et créatine (Mochel et al 2010). OBJECTIF: Nous avons cherché à mettre en évidence des biomarqueurs du métabolisme énergétique cérébral chez les patients atteints de MH de façon à poursuivre le développement de thérapeutiques mitochondriales. METHODES: Nous avons couplé des techniques non invasives de spectroscopie RMN-31P avec un paradigme de stimulation visuelle afin de mesurer les concentrations en ATP, phosphocréatine (PCr) et phosphate inorganique (Pi) avant, pendant et après activation occipitale. Nous avons inclus 15 patients à un stade précoce de la maladie – UHDRS moteur moyen= 18 ±9 – et 15 témoins appariés pour l'âge et le sexe. RESULTATS: Chez les témoins, nous avons observé une augmentation de 11% du ratio Pi/PCr (p=0,012) et de 13% du ratio Pi/ATP (p=0,008) pendant 8 minutes de stimulation visuelle, correspondant à une augmentation de la synthèse en ATP et des concentrations en ADP. Après stimulation, les ratio Pi/PCr et Pi/ATP sont revenus à l'état de repos chez les témoins (p=0,006 et 0,011). Chez les patients atteints de MH, nous n'avons pas observé de modification du profil énergétique pendant et après la stimulation visuelle, traduisant une altération de la bioénergétique cérébrale mitochondriale. De plus, chez les patients, nous avons observé une corrélation entre l'UHDRS et le ratio Pi/ATP pendant (p= 0,014) et après (p=0,009) la stimulation occipitale, ainsi qu'une corrélation entre l'UHDRS et le ratio Pi/PCr pendant la phase de récupération (p=0,016), reflétant une corrélation entre la sévérité de la maladie et le profil énergétique cérébral dans la MH. CONCLUSION: Nous avons identifié un profil énergétique cérébral anormal chez des patients au stade précoce de la MH. Nous souhaitons utiliser les ratio Pi/PCr et Pi/ATP comme biomarqueurs dans des essais thérapeutiques ciblant le déficit énergétique cérébral.

session simultanée 8
Thème 8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

MFN2 IS A NOVEL GENE RESPONSIBLE FOR MITOCHONDRIAL DNA INSTABILITY ASSOCIATED WITH OPTIC ATROPHY "PLUS" PHENOTYPE

S Bannwarth (1), N Bonello-Palot (2), A Cano (3), B Chabrol (3), A Chaussenot (1), A Chevrollier (4), K Fragaki (1), V Paquis-Flucklinger (1), JF Pellissier (5), J Pouget (6), V Procaccio (7), c Rouzier (8), A Verschueren (6)

1. Service de Génétique médicale, CHU L'Archet, NICE, France
2. Département de Génétique médicale, CHU La Timone, MARSEILLE, France
3. Service de Neuropédiatrie, CHU La Timone, MARSEILLE, France
4. Département de Biochimie et Génétique, CHU Angers, ANGERS, France
5. Service d'Anatomo-pathologie, CHU La Timone, MARSEILLE, France
6. Service de Neurologie, CHU La Timone, MARSEILLE, France
7. Département de biochimie et génétique, CHU Angers, ANGERS, France
8. Génétique médicale, CHU L'Archet, NICE, France

MFN2 and OPA1 genes encode two dynamin-like GTPase proteins involved in the fusion of the mitochondrial membrane. They have been associated with Charcot-Marie-Tooth disease type 2A and autosomal dominant optic atrophy, respectively. We report a large family with optic atrophy beginning in early childhood, associated with axonal neuropathy and mitochondrial myopathy in adult life. The clinical presentation looks like the autosomal dominant optic atrophy "plus" phenotype linked to OPA1 mutations but is associated with a novel MFN2 missense mutation (c.629A>T, p.D210V). Multiple mitochondrial DNA deletions were found in skeletal muscle and this observation makes MFN2 a novel gene associated with "mitochondrial DNA breakage" syndrome. Contrary to previous studies in Charcot-Marie-Tooth disease type 2A patients, fibroblasts carrying the MFN2 mutation present with a respiratory chain deficiency, a fragmentation of the mitochondrial network and a significant reduction of Mitofusin 2 protein expression. Furthermore, we show for the first time that impaired mitochondrial fusion is responsible for a deficiency to repair stress-induced mitochondrial DNA damage. It is likely that defect in mitochondrial DNA repair is due to a variability in repair protein content across the mitochondrial population and is at least partially responsible for mitochondrial DNA instability.

session simultanée 8
Thème 8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

UNE NOUVELLE REGULATION DE LA FRATAXINE PAR LES MICROARNS DANS L'ATAXIE DE FRIEDREICH.

MICRORNA-MEDIATED REGULATION OF FRATAXIN IN FRIEDREICH'S ATAXIA.

S Bandiera (1), E Hatem (1), M Girard (1), AS Jannot (1), L Rifai (1), C Loiseau (1), A Munnich (1), S Lyonnet (1), A Henrion-Caude (1)

1. Département de Génétique URM781, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France

Les microARNs (miRs) sont de petits ARNs non-codants capables de moduler l'expression des gènes en interférant avec la traduction ou la stabilité des ARNs messagers (ARNm). L expression différentielle de miRs chez les patients atteints de différentes ataxies suggère un rôle crucial de miRs dans la neurodégénérescence. Nous avons fait l hypothèse d une régulation différentielle de la frataxine par les miRs qui pourrait affecter les niveaux de protéine chez les patients atteints d' ataxie de Friedreich.

Par une analyse computationnelle, nous avons recherché les sites de fixation des miRs évolutivement conservés dans le 3'-UTR du gène frataxine humaine puis, nous avons identifié un sous-ensemble de sites cibles. Parallèlement, nous avons séquencé la région 3'-UTR de la frataxine dans notre cohorte de patients atteints d'ataxie de Friedreich (n = 57) afin de rechercher d'éventuelles variations.

session simultanée 8
Thème 8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

LA DEPLETION DE BBS12 INDUIT UNE MORT DES PHOTORECEPTEURS DU A UN STRESS DU RETICULUM ENDOPLASMIQUE

A Claussmann (1), H Dollfus (1), V Marion (1), A Mockel (1), C Obringer (1), C Stoetzel (1)

1. Laboratoire de Physiopathologie des syndromes rares héréditaires, AVENIR-Inserm, EA3949, Faculté de médecine de Strasbourg, Université de Strasbourg, Strasbourg, France

Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS) appartient au groupe de maladies génétiques rares: les ciliopathies. Les protéine BBS sont impliquées dans le maintient et la fonction du cil primaire. Dans la rétine, les segments externes et internes du photorécepteur sont reliés par une structure ciliaire comparable. Pour comprendre comment un dysfonctionnement des protéines ciliaires peut mener à la dégénérescence rétinienne caractéristique du BBS, nous avons effectué une étude fonctionnelle de la protéine BBS12 dans un model in vivo : la souris Bbs12-/- et un model ex vivo : la culture d'explants rétiniens murins.

La souris Bbs12-/- présente une dégénérescence rétinienne. A 10 semaines, la couche nucléaire externe est réduite de moitié en comparaison avec une souris contrôle Bbs12+/+. Des études de microscopie électronique à transmission (MET) ont mis en évidence des segments externes et internes dégradés. L' électrorétinogrammes' de la souris Bbs12-/- au même âge ne présente aucun signal électrique. Une accumulation de la rhodopsine est observée dans la couche nucléaire externe dénotant d'un défaut de transport ciliaire. Une étude par PCR quantitative en temps réel des ARNs messagers isolés à partir de rétines de souris Bbs12-/- et Bbs12+/+ montre que différents marqueurs spécifiques du stress du réticulum endoplasmique (RE), notamment la protéine activatrice d'apoptose, la Caspase12, une protéine chaperonne du RE, BIP et le facteur de transcription CHOP10 sont surexprimés chez les souris Bbs12-/-. En MET, on observe également un élargissent des citernes composant le RE, ce qui est caractéristique d'un stress de cet organelle.

Nous avons par la suite effectué des co-cultures de rétines et de l'épithélium pigmentaire rétinien où nous avons effectué des déplétions de la protéine BBS12. Ce model reproduit le phénotype observé chez la souris Bbs12-/-: défaut de transport de la rhodopsine, apoptose des photorécepteurs et surexpression de marqueurs du stress du RE. Nous avons utilisé ce model afin de tester trois molcécules susceptibles de réduire le stress du RE. Nous avons pu déterminer qu'après traitement par la combinaison des trois molécules des explants déprivés de BBS12 le nombre de noyaux apoptotiques dans la couche des photorécepteurs observé par TUEL diminue de 15% par rapport aux explants non traités. Les marqueurs du stress du RE sont également diminués.

Grâce à ces études, nous avons pu mettre en évidence que l'absence de la protéine BBS12 au niveau de la rétine provoque une apoptose des cellules photorécéptrices induite par un défaut de transport ciliaire. Ce défaut ciliaire est responsable d'une accumulation de protéines dans le segment interne causant de ce fait un stress du RE. Grâce à l'utilisation de traitement pharmacologique ciblé, nous avons pu inhiber la perte des photorécpeteurs, ce qui représente une approche thérapeutique intéressante dans le traitement de la dégénerescence rétinienne lié au syndrome de Bardet Biedl.

COMM ORALE 3
Thème 1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

MIRROR PHENOTYPES ASSOCIATED WITH 16P11.2 REARRANGEMENTS.

J Andrieux (1), JS Beckmann (2), S Bouquillon (1), L Harewood (3), L Hippolyte (4), S Jacquemont (4), Z Kutalik (5), A Maillard (4), I On behalf of all the 16p11.2 consortium collaborators (6), A Reymond (3), F Zufferey (4), P Froguel (7), ND Beckmann (2)

1. Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, Lille, France
2. Service de Génétique Médicale, CHUV, Lausanne, Suisse
3. Centre Intégratif de Génomique, UNIL, Lausanne, Suisse
4. Service de Génétique, CHUV, Lausanne, Suisse
5. Département de Génétique Médicale, UNIL, Lausanne, Suisse
6. -, -, -, Suisse
7. CNRS 8090-Institut de Biology, Institut Pasteur, Lille, France

Recent extensive GWAS identified numerous loci associated with obesity, but they only account for a small fraction of the heritability of this trait. We previously reported a highly penetrant form of obesity resulting from a heterozygous deletion of 600 kilobases at the 16p11.2 locus. Deletions identified from GWAS data in 16053 individuals from 8 European cohorts were absent from healthy non-obese controls and accounted for 0.7% of our morbidly obese cases (body mass index, BMI ≥ 40 kg.m-2 p = 6.4x10-8, OR = 43.0)

In contrast to obesity, few genetic variants underlying clinical conditions associated with being underweight (BMI

COMM ORALE 3
Thème 8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

ROLE DES TRANSCRITS TELOMERIQUES (TERRAS) DANS L'EXPRESSION DES GENES SUBTELOMERIQUES : IMPLICATION EN PATHOLOGIE

C Schluth-Bolard (1), A Ottaviani (2), J Morere (3), A Saint-Léger (2), M Monniaux (1), E Gilson (2), F Magdinier (4)

1. Laboratoire de Biologie Moléculaire de la Cellule, CNRS UMR 5239, ENS de Lyon, Lyon, France
2. LBPG CNRS 6267 INSERM U998, Faculté de Médecine, Nice, France
3. Laboratoire Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, INSERM UMR_S910, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France
4. Laboratoire Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle INSERM UMR_S910, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France

Les transcrits télomériques (TERRAs) sont de longs ARN non codants de localisation nucléaire, récemment découverts. Ils forment un ensemble de molécules de taille hétérogène (100 bases à 9 kb), transcrites des régions subtélomériques vers les télomères, contenant des répétitions télomériques (UUAGGG)n et de demi-vie brève. De nombreux aspects de leur biologie ne sont pas encore élucidés. Les TERRAs interviendraient dans la stabilité et la régulation de la réplication des télomères, le maintien de la chromatine télomérique, et l'activité de la télomérase.

Afin d'étudier le rôle des TERRAs dans la régulation de l'effet de position télomérique (TPE), silence transcriptionnel réversible des gènes proches d'un télomère, nous avons utilisé un modèle cellulaire dans lequel le gène rapporteur eGFP (Green Fluorescent Protein) est placé à proximité d'un télomère néo-formé grâce au procédé de fragmentation télomérique. Cette organisation entraîne une diminution stable de l'expression de la GFP.

Dans ce contexte, nous avons mis en évidence la présence d'un transcrit hybride GFP-TERRA englobant le gène eGFP subtélomérique et les répétitions télomériques. La présence de ce transcrit est associée à une faible expression du gène eGFP, reflétant le TPE. Lorsque la transcription du gène rapporteur et des répétitions télomériques sont découplées par l'insertion d'un signal de polyadénylation fort, l'expression de la GFP est fortement augmentée et reste stable au cours du temps, et le transcrit hybride devient faiblement détectable. Ceci suggère que la transcription à travers les répétitions télomériques participe au TPE. Par ailleurs, nous avons mis en évidence une déstabilisation du transcrit GFP ainsi qu'un enrichissement relatif en résidus histone H4K20 triméthylés dans les cellules exprimant le transcrit GFP-TERRA.

Ces résultats suggèrent que les TERRAs participeraient au TPE par la déstabilisation des transcrits GFP et un renforcement de l'hétérochromatine télomérique. Ils pourraient ainsi contribuer à la régulation de l'expression des gènes localisés à proximité des télomères. Nous discuterons du rôle potentiel des TERRAs dans les pathologies liées aux subtélomères et plus particulièrement la myopathie facio-scapulo-humérale, une dystrophie musculaire autosomique dominante secondaire à une contraction du nombre de répétitions du macrosatellite D4Z4 dans la région subtélomérique 4q35 et dont la physiopathologie mettrait en jeu des processus épigénétiques complexes, encore mal élucidés.

COMM ORALE 3
Thème 7.Développement et foetopathologie

CORRELATION GENOTYPE/PHENOTYPE DES LISSENCEPHALIE DE TYPE II(COBBLESTONE LISSENCEPHALIE) - COHORTE SOFFOET /65 CAS

C BOUCHET-SERAPHIN (1), L DEVISME (2), M CHELBI (3), M GONZALES (4), F RAZAVI (5), N SETA (6)

1. Biochimie Métabolique et Cellulaire, UF Génétique, APHP, Hôpital Bichât, Paris, France
2. Centre de Biologie-Pathologlie, CHU Lille, Lille, France
3. Biochimie Métabolique et Cellulaire, UF Génétique, APHP, Hôpital Bichat, Paris, France
4. Génétique et Embryologie Médicale, APHP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
5. Histologie-Embryologie-Cytogénétique, APHP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
6. Biochimie Métabolique et Cellulaire, APHP, Hôpital Bichât, Paris, France

Background: Le diagnostic de lissencéphalie de type II (cobblestone lissencephalie) repose sur l'identification d'une ectopie neurogliale dans l'espace arachnoïdien. Une hydrocéphalie précoce et évolutive en est la conséquence. La présentation post-natale de ces syndromes les associe aux COMD (Cerebro-Oculo-Muscular dystrophies : WWS, MEBD, FCMD). Ces pathologies d'origine autosomique récessive présentent un très large spectre clinique et sont difficiles à diagnostiquer. Elles sont liées à la présence de mutations dans des gènes impliqués dans la glycosylation de l'alpha-dystroglycan.

Objectif : Notre étude a pour but de décrire les différentes présentations histologique à partir de tissus foetaux de ces syndromes et d'établir une corrélation génotype/phénotype afin d'améliorer l'efficacité du diagnostic moléculaire.

Matériel et méthodes : Les études neuropathologiques (étendue de la dysplasie au niveau du cervelet et de la rétine, l'évaluation de l'ectopie neurogliale, via le rapport couche extracorticale/plaque corticale ; ECL/CP) et moléculaires (séquençage ADN et /ou ARN et/ou quantification génique des 6 gènes POMT1, POMT2, POMGNT1, FKRP, FKTN,et LARGE) ont été menées à l'aveugle sur une série de 65 fœtus (SOFFOET) avec diagnostic de LISII.

Résultats: Le séquençage des 6 gènes a permis de poser le diagnostic moléculaire dans 68% des familles. Les études histologiques font ressortir 3 sous-types de LISII en fonction du rapport ECL/CP. Il existe une très bonne corrélation génotype/phénotype entre ces 3 sous-types et les gènes impliqués. Les cas où l'ectopie neurogliale est la plus sévère (LISII-A) sont liés aux gènes POMT1/POMT2 (34%/9%) et FKRP (2%), les cas les moins sévères (LISII-C), exclusivement au gène POMGNT1 (19%). Un groupe intermédiaire (LISII-B), est lié a des mutations du gène LARGE (4%).

Conclusion/Discussion: Cette large étude foetopathologique des cas français de LISII a permis de définir des sous-types de LISII et a montré une bonne corrélation génotype/phénotype. Un arbre décisionnel basé sur ces études histologiques nous permet désormais d'améliorer l'efficacité du diagnostic moléculaire.

Mots Clés : Lissencéphalie type II, Cobblestone, Walker Warbug Syndrome, alpha-dystroglycanopathie, POMT1

COMM ORALE 3
Thème 5.Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

DEPISTAGE DE LA TRISOMIE 21 AU PREMIER TRIMESTRE DE LA GROSSESSE. RESULTATS NATIONAUX 2010. BILAN ET PERSPECTIVES.
FIRST TRIMESTER DOWN SYNDROME SCREENING. FRENCH RESULTS 2010

S DI COSTANZO (1), B SIMON-BOUY (2), K BERNOIS (1), A COHEN-AKENINE (1), A DESHAYES (1), P LEVY (2)

1. Pôle évaluation, Agence de la biomédecine, Saint-Denis la Plaine Cedex, France
2. Direction procréation embryologie génétique, Agence de la biomédecine, Saint-Denis la Plaine Cedex, France

Introduction: L'arrêté du 23 Juin 2009 recommande que « toute femme enceinte, quel que soit son âge, soit informée de la possibilité de recourir à un dépistage combiné permettant d'évaluer le risque de trisomie 21 pour l'enfant à naitre. Ce dépistage associe le dosage des marqueurs sériques du premier trimestre, réalisé à partir d'un prélèvement sanguin, et les mesures de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale ». Les échographistes appartiennent à un réseau de santé en périnatalité qui leur délivre un numéro d'identifiant attestant qu'ils ont effectué une EPP au sein d'un organisme de formation agréé par l'HAS. L'Agence de la biomédecine (ABM) a accepté de recueillir l'ensemble des données test par test sur l'année 2010 afin d'évaluer la qualité des paramètres.

Matériel et méthodes: 256 339 tests ont été recueillis par les laboratoires de biochimie avec la contribution des 4 clubs utilisateurs des logiciels et adressés à l'ABM. Les items recueillis étaient: le numéro d'identifiant de l'échographiste, l'âge de la femme, la date du dosage, les dosages et les MoM d'hCGb et de PAPP-A, la mesure de la clarté nucale, la mesure de la longueur cranio-caudale et le calcul du risque. Après les contrôles de qualité et l'exclusion des échographistes n'ayant fait qu'une échographie, 249 331 tests ont permis une analyse descriptive des données. Parallèlement, les laboratoires de cytogénétique doivent fournir leurs bilans annuels d'activité avant le 31/12/11.

Résultats: Une importante montée en charge a été observée entre les mois de janvier et de décembre. L'ensemble des résultats sera présenté. L'analyse des MoM d'hCGb montre une médiane nationale à 0,94, celles de PAPP-A de 0,99, celle de la clarté nucale à 0,83. La proportion de patientes se trouvant dans la zone à risque supérieur à 1/250 est 3,36% au lieu des 5% théoriques attendus, ce qui a considérablement fait diminuer le nombre de prélèvements invasifs. Les résultats des laboratoires de cytogénétique prénatale seront analysés en janvier 2012 et seront présentés, ils permettront de savoir si le nombre de trisomies 21 dépistées reste stable.

Discussion: Les objectifs de ce dépistage au 1er trimestre étaient d'évaluer tôt dans la grossesse pour les patientes qui le souhaitent un risque de trisomie 21, intégrant leur âge, les résultats de la biochimie et de l'échographie et surtout de réaliser moins de prélèvements invasifs tout en conservant un même niveau d'efficacité du dépistage. L'observation d'une déviation des médianes de clarté nucale à 0,83 au lieu de la valeur 1 attendue a entrainé un plus faible pourcentage de patientes dans le groupe à risque. Les conséquences seront analysées. Ce recueil national test par test a fourni une aide à l'auto évaluation des échographistes.Perspectives: l'ABM continuera à surveiller l'évolution du dépistage à partir d'indicateurs issus des données agrégées obtenues par les bilans annuels d'activité et non plus à partir des données test par test.

COMM ORALE 3
Thème 1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

LE POINT SUR L'HETEROGENEITE GENETIQUE DE L'AMAUROSE CONGENITALE DE LEBER : AU CARREFOUR DE PATHOLOGIES COMPLEXES.

J KAPLAN (1), N DELPHIN (1), S GERBER (1), S HANEIN (1), M NICOULEAU (1), I PERRAULT (1), JK PHRC GENPHACL (2), O ROCHE (3), JM ROZET (1), A MUNNICH (1)

1. Génétique - Fondation IMAGINE, HOPITAL NECKER, PARIS, France
2. GENETIQUE ET OPHTALMOLOGIE, PARIS, LILLE, MONTPELLIER, STRASBOURG, PARIS, France
3. Ophtalmologie, HOPITAL NECKER, PARIS, France

Introduction : L'amaurose congénitale de Leber (ACL) est sans conteste la plus précoce et la plus sévère de toutes les dystrophies rétiniennes. Sa variabilité clinique, inattendue pour une affection si précoce et sévère d'emblée, la place à l'extrémité d'un spectre de gravité des rétinopathies pigmentaires, augmentant de facto sa fréquence (≥1/40 000). L'ACL est un exemple caricatural d'hétérogénéité génétique et physiopathologique. A ce jour 16 gènes ont été identifiés, couvrant 70% des cas. Si la majorité de ces gènes sont exprimés préférentiellement dans le tissu rétinien, un nombre croissant d'entre eux s'exprime au-delà de la rétine. Trois de ces derniers gènes codent des protéines ciliaires faisant entrer l'ACL dans la grande famille des ciliopathies. La découverte de ces gènes impose aujourd'hui d'adapter la prise en charge des patients selon les résultats du génotypage.

Matériel et Méthodes : Depuis 20 ans, plus de 500 familles ont été recensées après le diagnostic d'ACL. Des études directes et/ou indirectes ont été effectuées dans la majorité de ces familles selon qu'i s'agit de cas sporadiques ou de familles multiplex. Après identification de mutations responsables, tous les patients ont été revus, l'histoire naturelle de la maladie a été reconsidérée et des explorations extra-ophtalmologiques ont été recommandées dans certains cas.

Résultats : Nous avons confirmé l'existence de deux grands types ophtalmologiques d'ACL : le type I, une «cone-rod dystrophy» congénitale, dramatiquement sévère et stationnaire, ne permettant pas une scolarité «en noir» et le type II, une « rod-cone dystrophy néonatale ou très précoce, certes sévère mais évolutive avec une acuité basse mais mesurable pendant les deux premières décennies de la vie. Le type I est couvert par 4 gènes (40% des cas) alors que le type II est couvert par 12 gènes (30% des cas). CEP290 (NPHP6) est le plus fréquemment en cause dans l'ensemble des cas. La mutation la plus fréquemment identifiée est une mutation intronique rendant exclusivement compte d'ACL isolée. En revanche, le gène IQCB1 (NPHP5) dont les mutations sont retrouvées dans notre cohorte de patients, recensés par l'atteinte rétinienne congénitale, sont tous à risque de développer une néphronophtise entre 10 et 50 ans, modifiant le diagnostic d'ACL en syndrome de Senior-Loken.

Discussion-conclusion : En moins de 20 ans, l'ACL est passée d'un statut de cécité néonatale rare en celui d'une affection complexe au carrefour de pathologies ophtalmologiques, neurologiques et rénales. Il n'est plus acceptable aujourd'hui d'uniformiser la prise en charge de tous les patients en prescrivant des explorations lourdes, coûteuses en anxiogènes alors que la majorité de ces explorations sont soit inutiles, soit faites trop prématurément pour être informatives. Cette étude a pour but de démontrer que l'étude génétique doit être faite prioritairement aux explorations extraoculaires qui ne revêtent jamais de caractère d'urgence.

COMM ORALE 3
Thème 8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

PREDICTIONS D'EPISSAGE EN DIAGNOSTIC : PERFORMANCES ET RECOMMANDATIONS TIREES D'UNE ETUDE NATIONALE PORTANT SUR 328 ANALYSES COMBINEES IN SILICO/IN VITRO SUR LES GENES BRCA1 ET BRCA2.

C Houdayer (1), V Moncoutier (2), S Krieger (3), M Barrois (4), F Bonnet (5), V Bourdon (6), M Bronner (7), M Buisson (8), F Coulet (9), P Gaildrat (10), C Lefol (11), M Léone (12), S Mazoyer (13), D Muller (14), A Remenieras (4), F Révillion (15), E Rouleau (11), J Sokolowska (7), JP Vert (16), R Lidereau (11), F Soubrier (9), H Sobol (6), N Sévenet (5), B Bressac-de Paillerets (4), A Hardouin (17), M Tosi (18), O Sinilnikova (19), D Stoppa-Lyonnet (20)

1. génétique, Institut Curie, Université Paris Descartes, Paris, France
2. génétique, Institut Curie, Paris, France
3. Biologie oncologique, Centre F Baclesse, Caen, France
4. génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
5. génétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France
6. oncogénétique moléculaire, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
7. génétique, CHU, Nancy, France
8. CNRS UMR5286 Insem U1052, Centre Léon Bérard, Lyon, France
9. génétique, Pitié Salpétrière, AP-HP, Paris, France
10. Inserm U614, Faculté de Médecine, Paris, France
11. laboratoire oncogénétique, Institut Curie, Saint Cloud, France
12. génétique constitutionnelle, CHU, Lyon, France
13. CNRS UMR5286 Inserm U1052, Centre L Bérard, Lyon, France
14. laboratoire oncogénétique, Centre P strauss, Strasbourg, France
15. génétique, CHU, Lille, France
16. U900, Institut Curie, Paris, France
17. biologie oncologique, Centre F Baclesse, Caen, France
18. Inserm U614, Faculté de Médecine, Rouen, France
19. génétique constitutionnelle, Centre L Bérard, Lyon, France
20. génétique, Institut curie, Université Paris Descartes, Paris, France

Un des enjeux majeurs du diagnostic en génétique est l'interprétation des variants génomiques de signification biologique inconnue (VSI). Les gènes BRCA1 et BRCA2 en fournissent une bonne illustration car ces VSI représentent environ 30 % des variations identifiées. Déterminer l'impact de ces VSI sur l'épissage est indispensable pour évaluer leur pathogénicité mais il serait trop lourd de réaliser des tests fonctionnels pour chacun d'entre eux. Des outils in silico prédisant l'impact de ces VSI sur l'épissage sont disponibles. Ces outils seraient précieux dans le processus de décision car ils permettraient de sélectionner les VSI éligibles aux études ARN et donc restreindre ces analyses aux cas pertinents. Cependant, les recommandations d'utilisation manquent car ils n'ont jamais été évalués sur de grandes séries.

Nous avons donc réalisé une étude rétrospective nationale regroupant 10 laboratoires du Groupe Génétique et Cancer réalisant des études d'épissage sur les VSI des gènes BRCA1 et BRCA2. Deux cent soixante-quatorze VSI allant des positions -113 à +104 par rapport aux jonctions intron/exon ont été étudiés in silico et in vitro/ex vivo (328 analyses). Les VSI ont été modélisés à l'aide de 6 outils: Splice Site Prediction by Neural Network, Splice Site Finder (SSF), MaxEntScan (MES), ESE Finder, Relative Enhancer and Silencer Classification by Unanimous Enrichment, Human Splicing Finder. Les résultats obtenus ont été comparés aux résultats des tests d'épissage. Il faut souligner que le contrôle qualité de la stratégie expérimentale est déterminant. La performance des outils a été évaluée par analyse de courbes ROC.

Les performances diffèrent selon la localisation des VSI testés. Pour les VSI localisés au voisinage des sites consensus (3 bases exoniques et 8 bases introniques entourant le site donneur ; 12 bases introniques et 2 bases exoniques entourant le site accepteur) soit 96 analyses, MES montre les

meilleures performances: sensibilité de 96% et spécificité de 74% avec un seuil de 15% (c'est-à-dire que le score in silico du site mutant est inférieur de 15% au moins à celui du site sauvage). Pour sélectionner les VSI éligibles à l'étude ARN, nous recommandons la combinaison MES (seuil de 15%) avec SSF en seconde intention (seuil de 5%), car la spécificité atteint ainsi 83% à sensibilité égale. Pour les autres localisations (232 analyses), comme attendu, le nombre de VSI affectant l'épissage est faible car d'autres séquences sont indispensables à la définition de l'exon. Des recommandations précises deviennent délicates à dégager. Néanmoins, nous avons observé qu'aucun site de novo n'est actif si le ratio de ce site sur le site sauvage est inférieur à 90% avec MES.

L'ensemble des résultats tirés de cette étude devrait être utile à la communauté diagnostique, particulièrement dans le contexte du séquençage haut débit qui impose des pipelines d'annotation robustes pour la masse de VSI attendus.

session simultanée 4
Thème 4. Gènes, chromosomes et cancer

DETECTION DE CNV RARES PAR CGH ARRAY A FAÇON CHEZ DES PATIENTS EVOCATEURS D'UN SYNDROME DE LI-FRAUMENI SANS MUTATION DETECTABLE DU GENE TP53

J Aury-Landas (1), G Bougeard (2), I Tournier (3), L Brugières (4), O Caron (5), B Bressac-de Paillerets (6), D Leroux (7), C Lasset (8), I Coupier (9), T Frebourg (10), JM Flaman (2)

1. Inserm U614, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie, Cancéropole Nord-Ouest, Rouen, France
2. Inserm U614, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie, Rouen, France
3. Inserm U614, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie, Cancéropole Nord-Ouest, Rouen, France
4. Département de Pédiatrie, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
5. Département de Médecine, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
6. Département de Génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
7. Département de Génétique, CHU, Grenoble, France
8. Oncogénétique, CRLCC Léon Bérard, Lyon, France
9. Département de Génétique, CRLCC Val d'Aurelle Paul Lamarque, Montpellier, France
10. Inserm U614 et Département de Génétique, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie et CHU, Rouen, France

Le syndrome de Li-Fraumeni (LFS) représente l'une des formes Mendéliennes de cancer les plus graves, compte-tenu du large spectre tumoral (sarcomes des tissus mous, ostéosarcomes, tumeurs cérébrales, corticosurrénalomes, cancers du sein préménopausiques, leucémies, cancers du poumon bronchoalvéolaires...) et de la précocité de survenue des tumeurs. Ce syndrome résulte de mutations constitutionnelles du gène suppresseur de tumeurs TP53. Grâce à un recrutement national, plus de 1000 familles évocatrices du LFS ont à ce jour bénéficié d'une analyse moléculaire du gène TP53, ce qui a permis d'identifier une mutation chez 162 familles. Afin d'estimer la contribution de CNV (Copy Number Variations) délétères dans le déterminisme génétique du LFS chez les familles sans altération détectable du gène TP53, nous avons développé une puce de CGH à façon. Cette puce à ADN à haute densité contient 28000 sondes, 4000 réparties sur une région de 400 kb englobant le locus TP53 et 24000 couvrant des gènes de la voie p53 ; 150000 sondes couvrent le reste du génome. L'analyse, sur cette puce de CGH à façon de haute densité, de 30 familles très évocatrices du LFS sans altération détectée du gène TP53, nous a permis (i) de cartographier le premier cas de de duplication délétère intragénique du gène TP53, (ii) de montrer l'absence d'altération quantitative touchant les régions régulatrices 5' et 3' du gène TP53 et (iii) de détecter 9 CNV non répertoriés dans la base de données DGV (Database of Genomic Variants). Puisque les données actuelles de la DGV ne permettent pas d'estimer les fréquences alléliques des CNV de petite taille, nous avons étudié par QMPSF ciblée la fréquence des CNV détectés chez des témoins d'origine Caucasienne. L'analyse de ces 9 CNV chez 600 témoins a mis en évidence le caractère polymorphique d'un CNV couvrant un microARN et le caractère exclusif des 8 autres CNV, dont 3 touchent des gènes clairement impliqués dans des voies de carcinogenèse. De façon remarquable, 2 de ces CNV touchent des gènes codant des paralogues de déacétylases capables de réguler l'activité de p53. Ces résultats suggèrent que des altérations de gènes impliqués dans la régulation post-traductionnelle de p53 pourraient constituer un nouveau déterminisme génétique du syndrome de Li-Fraumeni.

session simultanée 4
Thème 4. Gènes, chromosomes et cancer

MUTATIONS GERMINALES DU GENE CBL : UNE NOUVELLE RASOPATHIE PREDISPOSANT AUX LEUCEMIES MYELOMONOCYTAIRES JUVENILES (LMMJ)

A Baruchel (1), C Baumann (2), M Besnard (3), L Burglen (4), B Cassinat (5), H Cavé (2), C Chomienne (6), O Fenneteau (7), M Hammoutene (8), B Isidor (9), J Lachenaud (2), B Leheup (10), C Mignot (11), S Odent (12), E Pasmant (13), B Pérez (2), N Philip (14), M Strullu (2), F Touzot (15), A Verloes (16), D Vidaud (13)

1. Service d'Hématologie, Hôpital robert Debré, Paris, France
2. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
3. Pédiatrie, Clinique PAFOAI, Papeete, France
4. Service de Génétique, Hôpital Trousseau, Paris, France
5. Biologie cellulaire, Hôpital Saint Louis, Paris, France
6. INSERM UMR S940, Hôpital Saint Louis, Paris, France
7. Service d'Hématologie Biologique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
8. Service d'Endocrinologie, Hôpital des Armées, Alger, Algérie
9. Service de génétique, CHU-Nantes, Nantes, France
10. Service de Génétique, CHU- Nancy, Nancy, France
11. Service de Neurologie pédiatrique, Hôpital Trousseau, Paris, France
12. Service de Génétique, CHU-Rennes, Rennes, France
13. INSERM UMR745, Faculté Descartes, Paris, France
14. Service de Génétique, Hôpital de la Timone, Marseille, France
15. Service d'Immuno-Hématologie, Hôpital Necker, Paris, France
16. Département de Génétique, Hôpital Robert debré, Paris, France

CBL, est une ubiquitine ligase E3 mais aussi une protéine multi-adaptatrice qui contrôle les réseaux de prolifération de nombreux types cellulaires en régulant négativement les cascades de signalisation transduites par les facteurs de croissance. Des mutations faux-sens de CBL ont été identifiées récemment chez des patients présentant une leucémie myélomonocytaire juvénile (JMML), un syndrome myélodysplasique et myéloprolifératif très rare mais très agressif survenant dans la petite enfance.

L'étude de la cohorte française de patients atteints de LMMJ (n=93) nous a permis d'identifier une mutation le plus souvent homozygote de CBL dans les cellules tumorales de 9 (10%) des patients. La mutation identifiée dans les cellules tumorale a été retrouvée à l'état hétérozygote dans les fibroblastes de 7 des 9 patients. Elle était héritée d'un des parents dans 3/7 cas. On a donc ici le processus de leucémogénèse décrit par Knudson pour les gènes suppresseurs de tumeur. Le premier évènement est germinal, La perte d'hétérozygotie de CBL liée à une disomie uniparentale acquise de la région 11q23.3 représente le second évènement somatique, sélectionné dans les cellules tumorales. En plus de la prédisposition à la LMMJ, les patients avec mutation germinale de CBL présentent un phénotype associant de façon variable dysmorphie, taches café au lait, cryptorchydisme, retard de croissance et de développement, lésions neurologiques et automimmunité. Certaines de ces anomalies rappellent celles observées dans le syndrome de Noonan ou la neurofibromatose de type 1, deux syndromes d'activation de la voie RAS (RASopathies) prédisposant également aux LMMJ. Nous avons recherché des mutations de CBL chez 214 patients référés pour syndrome de Noonan 47 patients référés pour neurofibromatose sans mutation de NF1 ou SPRED1. Une mutation hétérozygote de CBL a été retrouvée chez 2 (1%) des patients avec syndrome de Noonan. Aucun des deux ne présentait de leucémie. Les études devront se poursuivre pour mieux décrire la clinique très hétérogène des patients présentant ce nouveau « syndrome CBL » et leur risque tumoral.

session simultanée 4
Thème 4. Gènes, chromosomes et cancer

BILAN DE 10 ANS (2001-2010) DE TESTS GENETIQUES CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE PARAGANGLIOME ET/OU PHEOCHROMOCYTOME

A BUFFET (1), A VENISSE (1), V NAU (1), I RONCELLIN (1), V BOCCIO (1), N LE POTTIER (1), M BOUSSION (1), C TRAVERS (1), C SIMIAN (1), N BURNICHON (1), N ABERMIL (1), J FAVIER (2), X JEUNEMAITRE (1), AP GIMENEZ-ROQUEPLO (1)

1. Département de Génétique, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, 75015 Paris, France
2. Equipe 3 – Gènes et Pression Artérielle, Paris- Centre de recherche Cardiovasculaire - Inserm U970, 75015 Paris, France

Contexte
Les paragangliomes (PGL) sont des tumeurs neuroendocrines rares dont environ un tiers sont génétiquement déterminés, secondaires à des mutations constitutionnelles sur 10 gènes de prédisposition (RET, VHL, NF1, SDHD, SDHB, SDHC, PHD2, SDHA, SDHAF2, TMEM127) progressivement identifiés entre 1992 et 2010. Afin d'illustrer le développement des tests moléculaires dans cette pathologie, nous avons évalué l'apport diagnostique des tests réalisés dans cette indication dans le laboratoire de génétique de l'hôpital européen Georges Pompidou entre janvier 2000 et décembre 2010.

Matériels et méthodes
2499 patients ont été analysés. Le diagnostic de PGL avait été posé chez 1640 d'entre eux (cas index) et 859 demandaient un diagnostic présymptomatique familial. Parmi les 1640 cas index, 20 patients étaient atteints de neurofibromatose de type 1 et n'ont pas été étudiés au niveau moléculaire. De 2001 à 2003, les analyses génétiques comprenaient le séquençage direct des gènes RET, VHL, SDHB, SDHD, et SDHC. La recherche de grands réarrangements chromosomiques des gènes SDHx et VHL a été introduite par QMPSF dès 2004, et par MLPA en 2008. Le séquençage direct des gènes SDHA, SDHAF2 et PHD2 a été transféré en routine en 2009, et celui de TMEM127 en 2010.

Résultats
Une mutation constitutionnelle sur un gène de prédisposition a été identifiée chez 363 cas index et 427 apparentés. 74 % des cas index avaient une mutation sur l'un des gènes SDHx, et 17,6 % sur VHL. Aucune mutation sur SDHAF2 ou PHD2 n'a été retrouvée. 191 mutations différentes ont été identifiées (73 SDHB, 50 SDHD, 17 SDHC, 32 VHL, 10 RET, 7 TMEM127 et 2 SDHA). Une mutation a été retrouvée chez environ 8 % des patients porteurs d'un PGL de présentation apparemment sporadique et chez environ 46 % des patients cliniquement suspects d'être porteurs d'une forme génétiquement déterminée (histoire familiale de PGL, PGL diagnostiqué à un âge inférieur ou égal à 35 ans, PGL multiples). Dans la période 2001-2003, une mutation a été identifiée chez 43/146 cas index, soit 29,45 %, et chez 138/666 cas index, soit 20,7 % pendant la période 2008-2010. Parallèlement, le nombre de demandes de test chez les patients atteints d'un PGL d'apparence sporadique (51 % pendant la période 2001-2003 versus 65 % pendant la période 2008-2010) a augmenté.

Conclusion
La découverte successive des nouveaux gènes de prédisposition au PGL, associée à l'évolution des techniques de screening moléculaire, a permis d'identifier une mutation chez 22,4 % des cas index analysés et de dépister 427 sujets à risque de développer la maladie. Chez ces sujets, l'identification de la mutation responsable s'est avérée essentielle pour la mise en place d'une prise en charge spécifique ainsi que d'un conseil génétique adapté au risque génétique. L'identification en 2011 d'un nouveau gène de prédisposition, appelé MAX, devrait permettre d'expliciter certains cas ayant un test négatif mais suspects d'être atteints d'une forme héréditaire.

session simultanée 4
Thème 4. Gènes, chromosomes et cancer

INCIDENCE ELEVEE DES MUTATIONS GERMINALES DE SMARCB1 PARMI LES ENFATS ATTEINTS DE TUMEURS RHABDOÏDES

Fra Bourdeaut (1), D Lequin (2), L Brugieres (3), M Gauthier-Villars (4), I Coupier (5), G Pierron (2), O Delattre (6)

1. INSERMU830 et département de Pédiatrie, Institut Curie, Paris, France
2. Unité de génétique somatique, Institut Curie, Paris, France
3. Départment de pédiatrie, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
4. Département de génétique oncologique, Institut Curie, Paris, France
5. Service de génétique, CHU Montpellier, Montpellier, France
6. INSERM U830 Laboratoire de Génétique et Biologie des Cancers, Institut Curie, Paris, France

Les mutations germinales de SMARCB1 sont responsables du syndrome de prédisposition aux tumeurs rhabdoïdes (RT). L'incidence de ce syndrome de prédisposition au sein de la population d'enfants atteints de RT a peu été évaluée. Notre étude fournit un premier aperçu précis de la prévalence de cette prédisposition dans une large cohorte de RT, et tente de préciser le phénotype oncologique associé aux mutations germinales. Matériel et méthodes : Les 9 exons codants de SMARCB1 ont été étudiés par séquençage et par MLPA. Nous avons pu analyser 64 ADN constitutionnels à partir de 115 RT apparemment sporadiques, diagnostiquées de 1999 à 2009. Les données de 9 individus issus de cas familiaux (fratrie) ont également été étudiées. Résultats : Des mutations germinales ont été trouvées chez 26 patients atteints de RT apparemment sporadiques (35%). L'âge médian au diagnostic était significativement plus faible (6 mois) chez les patients avec que chez les patients sans mutation germinale (18 mois) (p

session simultanée 4
Thème 4. Gènes, chromosomes et cancer

ANALYSE DES MANIFESTATIONS CUTANEES DANS LES MUTATIONS BIALLELIQUES DE MUTYH : A PROPOS DE 9 CAS.
CUTANEOUS MANIFESTATIONS IN 9 PATIENTS WITH BIALLELIC GERMLINE MUTYH MUTATIONS

F Caux (1), A Levy (2), O Schischmanoff (3), F Coulet (4), F Soubrier (5), M Renard (6), Y Parc (7), C Colas (5)

1. centre de référence des maladies génétiques cutanées & département de Dermatologie, Hôpital Avicenne, Bobigny, France
2. Service d'anatomopathologie, Hôpital Avicenne, Bobigny, France
3. Laboratoire de biochimie, Hôpital Avicenne, Bobigny, France
4. Département de génétique, Hôpital Pitié Salpétrière, Paris, France
5. Département de génétique, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
6. Département de génétique, Hôpital Pitié Salpêtrière - APHP, Paris, France
7. Département de chirurgie digestive, Hôpital Saint Antoine, Paris, France

Les mutations bialléliques du gène MUTYH sont responsables d'une polypose adénomateuse autosomique récessive dont le risque de dégénérescence en cancer est très élevé. Elles peuvent s'accompagner de manifestations cutanées comme des adénomes sébacés, des hyperplasies sébacés ou des carcinomes sébacés. L'incidence de ces lésions n'est pas connue car seuls des cas cliniques sont rapportés. Afin d'estimer cette incidence et décrire histologiquement ces lésions, nous avons examiné systématique 9 patients porteurs de mutations bialléliques de MUTYH.
Un examen dermatologique a été proposé à tous les patients porteurs de mutations bialléliques de MUTYH issus d'une consultation d'oncogénétique. Neuf patients ont été examinés dont 8 par le même dermatologue. Six lésions cutanées ont été biopsiées chez 4 patients. Les manifestations coliques ont été recueillies afin de rechercher une corrélation phénotype-génotype.
La population était composée de 5 hommes et 4 femmes, âgée de 49,3 ans (26-65). L'âge de début des manifestations cutanées était de 43 ans (33-54). Elles étaient présentes chez 6 patients sur 9 et se présentaient sous forme de papules jaunâtres de nombre variable siégeant sur le visage (front, pommettes) et pouvant s'étendre sur le cou. La biopsie cutanée de 6 lésions montrait toujours une hyperplasie sébacée. La recherche d'une instabilité des microsatellites dans 3 biopsies cutanées de 3 patients était négative. Chez 8 patients, une polypose était présente avec un nombre de polype variant de 5 à 150 et un âge moyen de début de 40,6 ans (30-49). Un cancer colorectal était présent chez 6 patients. L'étude de MUTYH mettait en évidence une mutation homozygote chez 7 patients (p.Gln337Ter, p.Gly382Asp, p.Tyr165Cys, p.Glu396GlyfsX43) et une mutation hétérozygote composite chez 2 patients (p.Tyr165Cys et Glu466del ; p.Gly382Asp et p.Pro391Leu). Un traitement par isotrétinoïne chez 3 patients induisait une régression complète des lésions cutanées.
La prévalence des lésions sébacées était élevée (66%) chez nos patients porteurs de mutations bialléliques de MUTYH. Ces lésions correspondaient toujours à des adénomes sébacés tandis que dans la littérature, 8 adénomes sébacés, 4 hyperplasies sébacées et 2 carcinomes sébacés ont été décrits. Le tableau clinique de ces patients peut évoquer un syndrome de Muir-Torre mais s'en différencie par l'analyse histologique qui montre toujours des adénomes sébacés dans le syndrome de Muir-Torre. Il ressemble également aux hyperplasies sébacées multiples des greffés d'organes sous immunosuppresseurs. Aucune corrélation phénotype-génotype n'apparaît clairement dans notre étude.
Nous rapportons une prévalence élevée d'hyperplasie sébacée chez les patients porteurs de mutations bialléliques de MUTYH. Les dermatologues doivent savoir que la présence de papules jaunâtres multiples du visage chez un sujet jeune n'est pas spécifique du syndrome de Muir-Torre mais doit également faire rechercher une mutation de MUTYH.

session simultanée 4
Thème 4. Gènes, chromosomes et cancer

SYNDROMES MYELODYSPLASIQUES (SMD) AVEC DELETION 11Q : ETUDE DU GROUPE FRANCOPHONE DE CYTOGENETIQUE HEMATOLOGIQUE (GFCH) EN COLLABORATION AVEC LE GROUPE FRANCOPHONE D'HEMATOLOGIE CELLULAIRE (GFHC)

V De Mas (1), V Baccini (2), J Boudjarane (3), D Penther (4), V Eclache (5), S Struski (1), C Bastard (4), H Zattara (3), E Delabesse (1), M Lafage Pochitaloff (3)

1. Laboratoire d'hématologie, CHU, Toulouse, France
2. Laboratoire d'hématologie, CHU, Marseille, France
3. Département de génétique, CHU, Marseille, France
4. Centre Régional Anticancéreux, Centre Régional Anticancéreux, Rouen, France
5. Laboratoire d'hématologie, CHU, Avicenne-Bobigny, France

Dans les SMD et SMD/SMP, les del(11q) sont des anomalies rares (0,6 à 2%) qui surviennent dans tous les types de SMD et SMD/SMP de la classification OMS. Le pronostic selon l'IPSS est intermédiaire si la del(11q) est isolée. Dans la littérature, la del(11q) est le plus souvent décrite comme del(11)(q13q23) ou del(11)(q14). Nous avons inclus 115 cas de SMD avec del(11q) provenant de 24 centres du GFCH sur une période de 11 ans. Les patients ont un âge médian de 74 ans et sont plus fréquemment des femmes (sexe ratio M/F 0,75). D'après les données cytologiques, ces patients ont été classés selon la classification OMS 2008. Sur le plan des cytopénies, 51 patients sur 100 ont une anémie inférieure à 10g/dL, 38 sur 100 une neutropénie inférieure à 1,8G/L et 35 sur 100 une thrombopénie inférieure à 100G/L. Selon l'IPSS, le nombre de cytopénies est de 0 (16 cas), 1 (58 cas), 2 (31 cas) ou 3 (6 cas). 95% des patients ont moins de 11% de blastes médullaires. Le score cytologique IPSS est de 0 (38 cas), 0,5 (43 cas), 1 (13 cas), 1,5 (2 cas) et 2 (4 cas). Sur le plan qualitatif, la majorité (78/100 cas évaluables) présente une dysplasie mégacaryocytaire avec notamment des mégacaryocytes plurinucléés. Dans la majorité des cas (96/115), la del(11q) est retrouvée au sein de caryotypes non-complexes soit de manière isolée (57/115), soit associée à une autre anomalie (39/115) n'affectant pas le chromosome 7. Tous ces cas (96/115) sont donc de pronostic intermédiaire selon l'IPSS avec un score de 0,5. Les anomalies associées sont par ordre de fréquence : délétion 5q (22 cas), trisomie 8 (9 cas) et perte de l'Y (8/51 patients masculins). Le score global IPSS est de 0 (33 cas), 1 (42 cas), 1,5 (16 cas), 2 (4 cas), 2,5 (4 cas) et 3 (1 cas). Les données de notre étude montrent que les SMD avec del(11q) sont dans leur majorité des SMD avec score IPSS faible. D'après le caryotype, la zone de del(11q) est de taille variable, avec 3 types de del(11q): court, moyen et long. Sur le plan moléculaire, des gènes du 11q impliqués dans l'hématopoïèse normale et pathologique tels que CCND1, ATM, MLL et CBL ont été étudiés. L'analyse FISH révèle que le gène ATM situé en 11q22.3 est délété dans 108/112 cas testés et le gène MLL situé en 11q23.3, dans 100/112 cas testés. Une délétion de ces 2 gènes est retrouvée dans 93 cas (85%). Sur 55 patients testés pour le gène CBL située en 11q23.3, les 54 cas présentant une délétion de MLL sont délétés pour CBL. De plus la quasi-totalité des patients testés ne présentent pas de délétion du télomère 11q montrant que la del(11q) est interstitielle. L'analyse par HRM du gène CBL a révélé une mutation chez 6 patients (soit 11%). 5 patients sur les 6 présentent une délétion de l'autre allèle CBL. Nous avons délimité une zone critique de délétion située en 11q23.3 entre les gènes ZNF259 et MLL. L'analyse FISH du gène Fli1 situé en 11q24 et dont le rôle dans la mégacaryocytopoïèse est clairement identifié, est en cours.

session simultanée 4
Thème 4. Gènes, chromosomes et cancer

ETUDE CYTOGENETIQUE ET MOLECULAIRE DE LA T(1;9)(Q24;Q34) ASSOCIEE AU GENE DE FUSION RCSD1-ABL1 DANS LA LEUCEMIE AIGUË LYMPHOBLASTIQUE.

GENETIC STUDIES OF T(1;9)(Q24;Q34) ASSOCIATED WITH THE RCSD1-ABL1 FUSION GENE IN ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA.

E De Braekeleer (1), N Douet-Guilbert (1), D Rowe (2), S Mustjoki (3), A Zamecnikova (4), G Jaramillo (5), N Bown (2), K Porkka (3), C Ochoa (6), M De Braekeleer (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, U613, Faculté de Médecine, Brest, France
2. Northern Genetics Service, Newcastle Hospitals, Newcastle upon Tyne, Royaume-Uni
3. Laboratory of Hematology, Helsinki University Central Hospital and University of Helsinki, Helsinki, Finlande
4. Department of Hematology, Kuwait Cancer Control Center, Kuwait, Kuweit
5. Genetic Sequencing, Instituto del Cancer SOLCA, Cuenca, Equateur
6. Cytogenetics, Instituto del Cancer SOLCA, Cuenca, Equateur

En 2007, nous avons publié le premier cas de leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) associée à une t(1;9)(q24;q34) et montré la co-localisation des sondes BAC contenant les gènes RCSD1 et ABL1, suggérant la présence d'un gène de fusion non encore décrit [1]. En 2009, Mustjoki et al. ont identifié un second patient ayant une LAL associée à une t(1;9)(q24;q34). Ils ont séquencé les produits de PCR et montré que les trois premiers exons de RCSD1 avaient fusionné avec ABL1 à partir de l'exon 4 [2].

Depuis, grâce à des collaborations internationales, nous avons reçu du matériel de trois autres patients (Grande-Bretagne, Kuwait et Équateur) et de celui décrit par Mustjoki et al. Cinq patients font donc l'objet de cette étude. Il s'agit de 3 hommes et 2 femmes, âgés de 11 à 40 ans. Tous ont une LAL à cellules B (immunophénotype : CD10+, CD19+, CD22+, CD24+, CD79a+).

La co-hybridation en FISH avec les sondes BAC RP11-232M22 contenant le gène RCSD1 et RP11-83J21 contenant le gène ABL1 a montré deux signaux de fusion chez les 4 patients chez qui la FISH a été réalisée. Le séquençage des produits de PCR chez 3 patients a montré que les trois premiers exons de RCSD1 avaient fusionné avec ABL1 à partir de l'exon 4. Chez un 4ème patient, il a été montré par FISH que la partie N-terminale de ABL1 à partir de l'exon 4 était transloquée sur le chromosome 1 [3]. L'analyse transcriptomique de 2 patients porteurs du gène de fusion RCSD1-ABL1 révèle que ce groupe a une signature bien distincte de celle de 4 patients ayant une LAL associée au gène de fusion BCR-ABL1.

La fusion RCSD1-ABL1 ne retient que les exons 4 à 11 de ABL1. En conséquence, la protéine de fusion ne conserve qu'une partie du domaine SH2 de ABL1, mais le domaine SH1 (qui a une fonction tyrosine kinase), les 3 domaines de signalisation nucléaire, les 3 régions de liaison à l'ADN et le domaine de liaison à l'actine F dans leur entièreté. De plus, la protéine ABL1 contribue notamment à la liaison à l'actine et à son remodelage.

Bien que la fonction exacte de RCSD1 soit encore inconnue, ce gène est impliqué dans le remodelage du cytosquelette d'actine, une étape importante lors de la mitose. La fusion RCSD1-ABL1 pourrait donc entraîner une altération de la fonction cellulaire en affectant la régulation du cytosquelette. Elle pourrait aussi entraîner une augmentation de l'activité tyrosine kinase de ABL1, comme c'est le cas pour d'autres gènes de fusion impliquant ABL1. Les inhibiteurs de tyrosine kinase pourraient alors constituer une piste thérapeutique. En fait, les quelques tentatives de traitement par

l'imatinib se sont traduites par des résultats partiels et transitoires de courte durée que pourrait traduire une signature différente de celle de BCR-ABL1.

[1] De Braekeleer E et al. Leukemia 2007; 21: 2220-2221
[2] Mustjoki et al. Haematologica 2009; 94: 1469-1471
[3] Zamecnikova Leukemia Res 2011; 35: e149-e150

session simultanée 4
Thème 4. Gènes, chromosomes et cancer

VARIATION DU RISQUE DE CANCER DU SEIN ASSOCIE AUX FACTEURS LIES AUX GROSSESSES DANS LA COHORTE GENEPSO (PORTEUSES DE MUTATION SUR LES GENES BRCA1/2) : MISE EN EVIDENCE D'UNE INTERACTION ENTRE PARITE ET LOCALISATION DE LA MUTATION

J Lecarpentier (1), C Noguès (2), E Mouret-Fourme (2), M Gauthier-Villars (3), C Lasset (4), JP Fricker (5), O Caron (6), D Stoppa-Lyonnet (7), P Berthet (8), L Faivre (9), V Bonadona (10), B Buecher (3), I Coupier (11), L Gladieff (12), P Gesta (13), L Huiart (14), M Frénay (15), E Luporsi (16), A Lortholary (17), C Colas (18), C Dugast (19), M Longy (20), I Tennevet (21), R Lidereau (2), N Andrieu (22), E GENEPSO (23)

1. Inserm U900 / Mines ParisTech / Institut Curie, Service de Biostatistiques, Institut Curie, Paris, France
2. Laboratoire d'Oncogénétique, Institut Curie, Hôpital René Huguenin, Saint-Cloud, France
3. Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France
4. DUniversité Lyon 1, CNRS UMR 5558 / Centre Léon Bérard, Unité de Prévention et Epidémiologie Génétique, Centre Léon Bérard, Lyon, France
5. Unité d'Oncologie, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
6. Service d'Oncologie Génétique, Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France
7. Inserm U830, Service de Génétique Oncologique, Université Paris-Descartes, Institut Curie, Paris, France
8. Service d'Oncogénétique, Centre François Baclesse, Caen, France
9. Oncogénétique et Hôpital d'enfants, Service de Génétique Médicale, Centre Georges François Leclerc, Dijon, France
10. Université Lyon 1, CNRS UMR 5558 / Centre Léon Bérard, Unité de Prévention et Epidémiologie Génétique, Centre Léon Bérard, Lyon, France
11. CHU Montpellier, Service de Génétique médicale et Oncogénétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
12. Service d'Oncologie Médicale, Institut Claudius Regaud, Toulouse, France
13. Pôle Oncologie pour la consultation oncogénétique régionale Poitou-Charentes, CH Georges Renon, Niort, France
14. Département d'Oncogénétique, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France
15. Unité d'Oncogénétique, Centre Antoine Lacassagne, Nice, France
16. Service d'Oncogénétique, Centre Alexis Vautrin, Vandœuvre-lès-Nancy, France
17. Service d'Oncogénétique, Centre Catherine de Sienne, Nantes, France
18. Département de Génétique, UF d'oncogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
19. Service de Génétique, Centre Eugène Marquis, Rennes, France
20. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Institut Bergonié, Bordeaux, France
21. Service oncologie médicale, Centre Henri Becquerel, Rouen, France
22. Inserm U900 / Mines ParisTech / Institut Curie, Service de Biostatistiques, Institut Curie, Paris, France
23. Groupe Génétique et Cancer, Unicancer, Paris, France

Dans la plupart des pays industrialisés le cancer du sein (CS) est le cancer le plus fréquent chez la femme en termes d'incidence et de mortalité. Les gènes BRCA1 et BRCA2 sont identifiés comme des gènes de susceptibilité au CS. Cependant les estimations du risque de CS chez des femmes porteuses de mutations sur ces gènes sont très variables en fonction des études. Cette hétérogénéité suggère l'action d'autres facteurs, génétiques ou autres, modulant l'action de ces gènes dans le développement de la tumeur. C'est dans ce contexte que nous avons étudié l'effet des facteurs liés aux grossesses sur le risque de CS en fonction de la localisation des mutations dans les gènes BRCA.
Nous avons utilisé un modèle de Cox pondéré pour prendre en compte le biais de recrutement des sujets de la cohorte GENEPSO. Pour éviter un sur-appariement sur la mutation, nous avons sélectionné par tirage au sort une femme par famille (990 femmes). Nous avons étudié les risques de CS associés aux grossesses et à l'allaitement, par gène muté, puis par localisation des mutations en utilisant les zones de risque de CS homogène précédemment décrites dans Lecarpentier et al.(2011).
Nos résultats confirment l'existence d'un effet protecteur d'un nombre croissant de grossesses menées à terme (GT) chez les porteuses de mutation sur les gènes BRCA1/2 (23% par GT additionnelle, IC95%=0.1-0.3). Par ailleurs nous observons une augmentation du risque de CS associé aux grossesses interrompues au court du 1er trimestre. Nous avons pris en compte simultanément l'effet divergeant des grossesses en fonction de leur issue sur le risque de CS, en créant le score TMAP qui mesure en % du temps total de gestation, sur l'ensemble des grossesses,

le temps cumulé dans la fenêtre des 3 premiers mois. L'augmentation de ce score est associé à une augmentation du risque de CS (TMAP>50% vs TMAP[30%-35%] : HR=1.97, IC95%=1.2-3.3). Ces risques ne varient pas en fonction du gène muté. En revanche, nos résultats montrent une interaction significative entre la parité et la localisation des mutations dans le gène BRCA1 (p inférieur à 10-3). Un effet protecteur de la parité est mis en évidence seulement lorsque la mutation se situe dans la zone à moindre risque de CS de BRCA1 (codons de 374 à 1161 ; HR=0.27, IC95%=0.1-0.6) et non lorsque celle-ci se trouve à l'extérieur de cette région (HR=1.39, IC95%=0.8-2.6).

Le score TMAP suggère l'existence d'un effet délétère des premiers mois de grossesses contrebalancé par les derniers mois de grossesses. Par ailleurs, l'interaction entre la parité et la localisation des mutations dans le gène BRCA1, montre la complexité des mécanismes de cancérogénèse même dans un système a priori plus homogène. Ces résultats confirment l'intérêt potentiel de prendre en compte tous les facteurs modificateurs (localisation des mutations, autres gènes, facteurs environnementaux/style de vie, etc.) dans l'estimation du risques de CS des femmes porteuses de mutations dans les gènes BRCA.

session simultanée 5
Thème 5.Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

ETUDE GENETIQUE D'UN CAS RARE D'INFERTILITE MASCULINE FAMILIAL.

E. Streichemberger (1), N Eudes (1), V Delague (1), G Longepied (1), F Decarpentrie (1), A Megarbane (2), C Metzler-Guillemain (1), N Levy (1), M Mitchell (1)

1. Inserm UMR_S910, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France
2. Unité de Génétique Médicale et laboratoire associé à l'unité UMR_S 910, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban

L'infertilité concerne un couple sur dix dans le monde et elle est définie par l'absence de conception après un an de rapports sexuels réguliers et non-protégés. Il existe une origine spermatique dans la moitié des cas. La plupart des anomalies spermatiques diagnostiquées restent encore inexpliquées. Nous avons une famille consanguine libanaise dans laquelle cinq des six fils ont consulté pour infertilité. Les spermogrammes des fils infertiles montrent qu'ils ont tous une oligospermie sévère à 50 000 spermatozoïdes/ml et 200000 spermatozoïdes/éjaculat (N>39 millions/éjaculat) tous étant immobiles. Après étude de liaison des fils et des deux parents, nous avons identifié une région d'homozygotie de 20 Mb sur un autosome, présente chez les fils infertiles, et absente chez les parents. Nous avons défini une sous-région critique de 10 Mb contenant 131 gènes (LOD score Z=3.1 à thêta=0.01).

Grâce à un financement de l'Institut GIS- Maladies Rares, nous avons pu séquencer cette région d'homozygotie et, nous avons identifié un variant codant non répertorié à l'état homozygote chez les fils infertiles, mais hétérozygote chez le père et la mère. Cette substitution nucléotidique introduit un codon stop dans le troisième sur douze exons, détruisant ainsi le principal domaine d'activité de la protéine. Nous nommons ce gène provisoirement OZF1 (pour OligoZoospermia Factor 1).

Les analyses préliminaires de la transcription du gène OZF1 montrent qu'il est exprimé de façon prédominante dans les testicules. De plus, en étudiant la cinétique d'apparition des deux différents transcrits d'OZF1 au cours de la spermatogenèse, nous avons identifié un transcrit spermatocyte-spécifique chez la souris. La structure de ce gène suggère des rôles possibles dans la réparation d'ADN et/ou du processing des ARNs dans les spermatocytes au cours de la méiose. Cette mutation n'a pas été retrouvée dans une cohorte d'homme fertile originaire du Liban (n=190), ni même dans une cohorte d'homme infertile de phénotype semblable c'est-à-dire en allant de patients azoospermiques à oligozoospermiques (n=220).

La découverte de ce gène comme facteur d'oligozoospermie sévère est exceptionnelle puisqu'à l'heure actuelle, seuls trois gènes autosomiques sont connus pour être impliqués dans l'infertilité masculine humaine, et tous sont associés à des anomalies spécifiques de structure de spermatozoïde. Des études complémentaires sont en cours afin de caractériser l'expression de OZF1 au cours de la spermatogenèse humaine.

session simultanée 5
Thème 2.Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

APPORT DES PUCES SNP DANS LE SYNDROME DE BECKWITH-WIEDEMANN, EN TANT QUE TECHNIQUE COMPLEMENTAIRE DE L'ANALYSE DE METHYLATION.

B Keren (1), S Chantot-Bastaraud (2), F Brioude (3), C Mach (4), S Azzi (3), C Depienne (5), JP Siffroi (6), A Brice (7), I Netchine (3), Y Le Bouc (3), S Rossignol (3)

1. Département de Génétique et Cytogénétique, Plateau Mutualisé de Génétique Constitutionnelle du GHU-Est, CRicm UPMC Inserm UMR_S975/CNRS UMR 7225, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
2. Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, UPMC INSERM, UMR S933, Hôpital Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France
3. Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, INSERM, UMR S938, Hôpital Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France
4. Département de Génétique et Cytogénétique, Plateau Mutualisé de Génétique Constitutionnelle du GHU-Est, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
5. Département de Génétique et Cytogénétique, CRicm UPMC Inserm UMR_S975/CNRS UMR 7225, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
6. Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, UPMC Inserm, UMR S933, Hôpital Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France
7. Unité Fonctionnelle de Génétique Médicale, Département de Génétique et Cytogénétique, Centre de Référence des Maladies Neurogénétiques, CRicm UPMC Inserm UMR_S975/CNRS UMR 7225, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France

Le syndrome de Beckwith-Wiedemann (BWS) est caractérisé par une avance staturale anté et post-natale, une macroglossie, une viscéromégalie et une prédisposition aux tumeurs embryonnaires, principalement rénales. Cette maladie est liée à la région 11p15, contenant un cluster de gènes soumis à empreinte. La maladie résulte d'une hyperactivation des gènes d'expression paternelle, et/ou d'une inactivation des gènes d'expression maternelle. Cela peut résulter d'anomalies de méthylation des 2 centres de l'empreinte de la région, de disomies uniparentales paternelles (UPD) segmentaires en mosaïque, de duplications d'origine paternelle et de mutations sur l'allèle maternel du gène CDKN1C.

Le diagnostic repose principalement sur des techniques moléculaires d'analyse de méthylation : Southern Blot, ASMM RTQ-PCR, MLPA methylation dépendante... Les principales limites de ces techniques sont leur sensibilité à la détection des mosaïques faibles et leur impossibilité à bien caractériser les UPD et duplications (points de cassure, taux de mosaïque).

Nous avons voulu évaluer l'apport des puces SNP dans la détection et la caractérisation des UPD et des microduplications responsables de BWS. Les puces SNP permettent de détecter les microduplications, comme la CGH-Array mais détectent également les pertes d'hétérozygotie donc les UPD. Pour ce travail nous avons étudié le profil de 25 patients atteints de BWS dont l'index de méthylation (IM a précédemment été obtenu en ASMM RTQ-PCR.

16 patients avaient des IM d'UPD : les résultats en puce ont permis de détecter et de différencier 13 UPD et 3 duplications (vues également en FISH). Nous avons également analysé l'ADN de 8 patients dont les IM étaient incertains. Dans 7/8 cas, une UPD a pu être mis en évidence sans ambigüité démontrant une meilleure sensibilité. Dans tous les cas, le taux de mosaïque et la taille du segment anormal ont pu être évalués. De plus, l'analyse de 2 patients sur ADN extrait de sang et ADN extrait de langue a détecté une variabilité du taux de mosaïque selon les tissus. Enfin nous avons étudié un patient dont les IM étaient strictement normaux, et la puce a confirmé cette normalité.

Au final les puces SNP présentent un intérêt diagnostique dans le BWS. Elles permettent de détecter les UPD de façon plus sensible que l'étude de méthylation, de détecter les duplications de façon plus sensible que la FISH et d'évaluer la taille et le taux de mosaïque des anomalies. Elles ne permettent

par contre pas de détecter les dérégulations isolées de la méthylation qui demeurent les anomalies les plus retrouvées dans le BWS. Les puces SNP présentent donc un intérêt à être utilisées de façon complémentaire aux techniques classiques d'analyse de méthylation dans le BWS.

session simultanée 5
Thème 5.Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

ETUDE PAR CGH-ARRAY, CONSEIL GENETIQUE ET DEVENIR D'UNE SERIE DE 39 MARQUEURS CHROMOSOMIQUES SURNUMERAIRES (SSMC) DE NOVO EN PRENATAL.

N Marle (1), D Martinet (2), A Abourra (3), G Joly-Helas (4), J Andrieux (5), E Flori (6), J Puechberty (7), F Vialard (8), D Sanlaville (9), S Fert-ferrer (10), G Bourrouillou (11), AC Tabet (3), B Quilichini (12), B Simon-Buy (13), S Amblard (14), M Doco-Fenzy (15), S Brisset (16), A Liquier (17), M Becker (18), A Bazin (19), N Lemeur (20), D Molina-Gomes (21), AL Mosca (1), M Payet (1), C Ragon (1), F Mugneret (1), L Faivre (22), P Callier (1)

1. Cytogénétique, CHU Le Bocage, DIJON, France
2. Service de Génétique Médicale, Hopital de Lausanne, Lausanne, Suisse
3. Cytogénétique, Hopital Robert Debré, Paris, France
4. Unité de Diagnostic Prénatal, Unité de Diagnostic Prénatal, Centre Hospitalier du Belvédère,, Mont-Saint-Aignan, France
5. Laboratoire de Génétique Médicale, Hopital de Lille, Lille, France
6. Service de Cytogénétique, Hopital de Strasbourg, Strasbourg, France
7. Cytogénétique, CHU Montpellier, Montpellier, France
8. Cytogénétique, Hopital Poisy, Paris, France
9. Cytogénétique, Hopital de Lyon, LYON, France
10. Cytogénétique, Hopital de Chambéry, Chambéry, France
11. Cytogénétique, Hopital de Toulouse, Toulouse, France
12. Cytogénétique, Laboratoire Biomnis, Lyon, France
13. Cytogénétique, Hopital de Versaille, Paris, France
14. Cytogénétique, Hopital de Grenoble, Grenoble, France
15. Cytogénétique, Hopital de Reims, Reims, France
16. Cytogénétique, Hopital Clamart, Paris, France
17. Cytogénétique, Laboratoire bordeaux, Bordeaux, France
18. Cytogénétique, Laboraoire Biomnis, LYON, France
19. Cytogénétique, Laboratoire Cerba, Paris, France
20. Cytogénétique, EFS Rouen, Rouen, France
21. Cytogénétique, Hopital Poissy, Paris, France
22. Génétique Médicale, CHU Le Bocage, DIJON, France

Nous rapportons la plus grande série de marqueurs chromosomiques surnuméraires (sSMC) de novo analysés par CGH-array en prénatal. La fréquence, dans la littérature, des marqueurs chromosomiques surnuméraires (sSMC) de novo est estimée à 0,043 % en diagnostic prénatal. Les sSMC constituent un groupe hétérogène d'anomalies chromosomiques de structure variable. La découverte d'un sSMC de novo soulève une question difficile pour le conseil génétique, en particulier au moment du diagnostic prénatal, en raison du risque de retard mental et/ou de diverses anomalies fœtales. Les sSMC sont difficiles à reconnaître en cytogénétique conventionnelle en raison de leur petite taille. Grâce à la CGH-array, il est devenu possible de déterminer l'origine et la composition des sSMC. Le but de notre étude était de déterminer par CGH-array la présence ou non d'euchromatine de 39 sSMC de novo afin i) de proposer un conseil génétique adapté ii) d'estimer le risque d'anomalies fœtales des sSMC de novo composés d'euchromatine. L'analyse par CGH-array des 39 sSMC de novo a permis de montrer que 61.6% (24/39) étaient des marqueurs non-acrocentriques, 30.7% (12/39) des acrocentriques et 7.7% (3/39) n'ont pu être identifiés. Parmi les 24 marqueurs non acrocentriques 21 étaient composés d'euchromatine. La mise en évidence d'euchromatine a permis un conseil génétique, la réalisation de 16 IMG et de 12 autopsies, 10/12 présentaient une dysmorphie. Parmi les 5 grossesses poursuivies 2 enfants sont nés avec des malformations (rénale et cardiaque). Pour les 12 marqueurs acrocentiques 4 présentaient de l'euchromatine (tous des sSMC(22)). Parmi ces 4, 3 grossesses ont été interrompues et une seule autopsie a été réalisée qui a montré un fœtus dysmorphique. Une grossesse a été poursuivie et l'enfant va bien à 11 mois. Pour les 3 sSMC de novo non identifiés par CGH-array les grossesses ont été poursuivies et les enfants vont bien. La fréquence des sSMC de novo estimée par cette étude est de 0.060%. Au total 69% des sSMC de novo et 87.5% des marqueurs non acrocentriques sont

composés d'euchromatine. 84% des interruptions médicales de grossesses ont été réalisées pour des sSMC non acrocentriques avec de l'euchromatine. Cette étude nous a permis d'estimer le risque d'anomalies fœtales après la détection en prénatal d'un sSMC de novo avec de l'euchromatine Ce risque est de 58% pour les non acrocentriques et de 10% pour les acrocentriques. Cette étude a montré que les sSMCs pouvaient être désormais identifiés et caractérisés par la technique de CGH-array. Cette technique représente un gain de temps car elle permet de déterminer rapidement la taille, l'origine, et la présence d'euchromatine du chromosome surnuméraire. En conclusion, la CGH-array est la technique la plus appropriée pour caractériser et détecter la présence d'euchromatine d'un sSMC, elle est particulièrement indiquée en diagnostic prénatal afin de faciliter l'évaluation des risques en temps opportun.

session simultanée 5
Thème 5.Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

UNE NOUVELLE MUTATION RECURRENTE DU GENE AURORA KINASE C (AURKC) ENTRAINANT LA PRODUCTION DE SPERMATOZOÏDES MACROCEPHALES EST IDENTIFIEE CHEZ DES SUJETS D'ORIGINE EUROPEENNE ET NORD-AFRICAINE.

M Ben Khelifa (1), C Coutton (1), F Abada (2), R Harbuz (1), R Zouari (3), C Triki (4), J Rollet (5), G Merdassi (6), F Vialard (7), I Koscinski (8), S Viville (9), A Guichet (10), V Mitchell (11), PS Jouk (1), S Hennebicq (1), v Satre (1), c Arnoult (12), J Lunardi (2), PF Ray (2)

1. Departement de Génétique et Procréation, CHU de GRENOBLE, GRENOBLE, France
2. UM de Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU de GRENOBLE, GRENOBLE, France
3. Clinique de la Reproduction les Jasmins, 23, Av. Louis BRAILLE, TUNIS, Tunisie
4. CMRDP, 5, rue Ibn Hazem, TUNIS, Tunisie
5. Clinique du Val d'Ouest, Médicentre, ECULLY, France
6. Unité de Procréation Médicalement Assistée, Hôpital Aziza Othmana, TUNIS, Tunisie
7. Département de Biologie de la Reproduction, Centre Hospitalier Poissy Saint Germain, POISSY, France
8. Service de Biologie de la Reproduction, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
9. Institut National de Santé et de Recherche Médicale (INSERM) U964/Centre National de Recherche Scientifique (CNRS) UMR 1704/Université de Strasbourg, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC),, Illkirch, France
10. Service de génétique, CHU d'Angers, Angers, France
11. Spermatogenèse et qualité du gamète mâle, CHRU Hôpital A Calmette, Lille, France
12. Equipe "Génétique, Infertilité et Thérapeutique", Laboratoire AGIM, CNRS FRE3405, Université Joseph Fourier, GRENOBLE, France

L'infertilité concerne 10 % à 15 % des couples ayant un désir d'enfant et une composante masculine est retrouvée dans près de la moitié des cas. Une origine génétique est probablement fréquente mais les investigations de routine se limitent actuellement au caryotype, à la recherche des micro-délétions du chromosome Y et des mutations CFTR. Elles permettent d'établir un diagnostic dans moins de 5% des cas, tous phénotypes confondus. L'identification et la caractérisation de nouveaux gène est donc primordiale pour améliorer le conseil génétique et la prise en charge de ces patients. Nous avons démontré qu'une mutation homozygote du gène aurora kinase C (AURKC) entrainait un blocage méïotique responsable de la production de spermatozoïdes macrocéphales multiflagellés et tétraploïdes. Cette mutation, c.144delC, avait été identifiée chez les individus originaires d'Afrique du Nord. Nous avions établi que la fréquence d'hétérozygotie de la mutation dans cette population était de 1/50 et estimé que la mutation datait d'environ 15 siècles [1,2].

Nous avons analysé un total de 82 patients présentant un phénotype de macrozoospermie et 67 sont porteurs de mutations d'AURKC (82 %). Au total nous avons identifié 111 allèles c.144delC et deux autres mutations (3 allèles) décrites précédemment. Une nouvelle mutation récurrente (20 allèles) a été retrouvée chez 9 patients non-apparentés et deux fratries de deux. Quatre des cas index sont Français d'origine européenne et cinq sont originaires d'Afrique du Nord indiquant que cette mutation a été transmise sur un large territoire. Il s'agit d'une mutation non-sens entrainant la perte du dernier tiers de la protéine. De manière logique nous n'observons pas de différence phénotypique entre les patients homozygotes pour c.144delC, les homozygotes pour la mutation stop et les hétérozygotes composites porteurs de ces deux mutations. Un haplotype commun ainsi que la co-ségrégation systématique d'un marqueur intragénique rare avec cette nouvelle mutation signe qu'il y a bien un effet fondateur. L'analyse de l'haplotype partagé par ces patients indique que la survenue de cette mutation précède celle de la mutation c.144delC. L'identification de deux mutations ancestrales dans le gène AURKC maintenues au cours de l'évolution malgré leur effet délétère à l'état homozygote chez l'homme, ouvre la question d'un potentiel avantage sélectif

procuré par l'haploinsuffisance d'AURKC, ceci au moins pour la population maghrébine, la plus concernée par cette pathologie.

1. Dieterich, K., et al. (2007) Homozygous mutation of AURKC yields large-headed polyploid spermatozoa and causes male infertility. Nat Genet 39, 661-665.

2. Dieterich, et al. (2009) The Aurora Kinase C c.144delC mutation causes meiosis I arrest in men and is frequent in the North African population.

session simultanée 5
Thème 5.Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

DIAGNOSTIC PRENATAL NON INVASIF: UNE NOUVELLE APPROCHE BASEE SUR L'ANALYSE DE L'ADN FŒTAL CIRCULANT PAR LES PUCES SNP

F ABDELHEDI (1), N CAGNARD (2), L ELKHATTABI (1), D LETESSIER (1), N Le DU (1), M GOUSSOT SOUCHET (3), V TSATSARIS (3), A LEBBAR (1), JM DUPONT (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, APHP, Groupement Hospitalier Cochin-Broca-Hotel Dieu, Paris, France
2. Plateforme Bio-informatique Paris Descartes, Faculté de Necker, Paris, France
3. Service de Gynecologie-Obstetrique, APHP, Groupement Hospitalier Cochin-Broca-Hotel Dieu, Paris, France

Actuellement, le diagnostic prénatal des anomalies chromosomiques repose essentiellement sur le caryotype après prélèvement de manière invasive de matériel biologique fœtal. Cette approche qui offre une excellente fiabilité, présente l'inconvénient d'un risque non négligeable de perte fœtale (0.5-1%). Pour éliminer ce risque et offrir un diagnostic prénatal non invasif (DPNI) à toutes les femmes enceintes, de nouvelles approches ont été élaborées dont le but est d'analyser le matériel biologique fœtal présent dans le sang maternel. Cependant ces approches se heurtent à l'impossibilité d'isoler de manière spécifique le matériel biologique fœtal présent dans le sang maternel, qu'il s'agisse de cellules ou d'ADN foetal libre circulant.

Notre objectif dans ce travail est de contourner cette étape de purification et de mettre à profit la technologie des puces à ADN pour réaliser une analyse pangénomique de l'ADN foetal libre circulant dans le sang maternel. Pour tester cette approche « génomique » nous avons utilisé des mélanges artificiels d'ADN fœtal et maternel à des proportions d'ADN fœtal de 20%, 10% et 5%. Les puces utilisés sont des puces SNP (Affymetrix 250K NSPI). Le principe de l' étape analytique des puces repose sur le choix des allèles informatifs chez la mère et le calcul par la suite des ratios pour ces allèles dans les mélanges artificiels. Nous avons testé en parallèle deux protocoles différents d'amplification génomique totale afin de pouvoir valider le protocole sur des varis plasmas maternels (puisque la quantité d'ADN plasmatique circulant extraite de 10 ml de sang maternel ne dépasse pas 10 ng, et celle nécessaire à la réalisation de la puce est de 250ng). Nous avons ainsi pu démontrer la capacité des puces Affymetrix 250 K à détecter tous les cas d'aneuploïdie (trisomie 21, 18 et 13) testés avant amplification génomique totale à des proportions d'ADN fœtal égales à 20%, grâce au développement d'un algorithme d'analyse approprié. Les méthodes d'amplifications testées ont permis d'avoir les quantités d'ADN nécessaires ; cependant seuls les produits d'amplification par Repli G ont pu être testés. Ainsi, la trisomie 21 a pu être détectée sur les produits d'amplification par RepliG à des proportions d'ADN fœtal égales à 5%. Ces résultats préliminaires sont encourageants pour le développement d'une approche pangénomique de diagnostic prénatal non invasif. D'autant plus que cette approche est basée sur la connaissance unique du génotype maternel.

session simultanée 5
Thème 5.Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

APPORT DE LA CGH-ARRAY DANS L'EXPLORATION DES HYPERCLARTES NUCALES DU PREMIER TRIMESTRE DE LA GROSSESSE

F Demurger (1), J Lucas (2), P Loget (3), L Pasquier (1), S Mercier (1), C Henry (2), C Quélin (1), S Odent (1), S Jaillard (2), MA Belaud-Rotureau (2)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Rennes, Rennes, France
2. Laboratoire de Cytogénétique, CHU Rennes, Rennes, France
3. Laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Foeto-pathologie, CHU Rennes, Rennes, France

La mesure de la clarté nucale réalisée lors de l'échographie du 1er trimestre de la grossesse constitue un des principaux marqueurs échographiques utilisé pour déterminer le risque de survenue d'anomalies chromosomiques. Une augmentation de cette mesure ou la présence d'un hygroma est associé à un risque élevé d'aneuploïdie. Il est cependant difficile d'évaluer le pronostic des fœtus qui présentent une clarté nucale augmentée en cas de caryotype normal. En effet, le caryotype ne permet pas de détecter les anomalies chromosomiques inférieures à 5-10 Mb qui pourraient être responsables d'anomalies du développement.

Nous avons donc cherché à définir le risque de microremaniement chromosomique en cas d'hygroma du 1er trimestre de la grossesse en étudiant par CGH-array vingt fœtus euploïdes ayant présenté une anomalie de la nuque à type d'hygroma colli. Pour des raisons éthiques, seuls des cas avec une issue de grossesse défavorable ont pu être inclus dans l'étude (fausse couche spontanée, mort fœtale in utero, interruption médicale de grossesse). L'existence de signes associés lors du suivi échographique et les résultats de l'examen fœto-pathologique ont également été pris en compte. Ainsi, l'hygroma constaté à l'échographie du 1er trimestre était isolé chez 16 fœtus et des signes d'appel échographiques supplémentaires ont été détectés dans environ 2/3 des cas lors du suivi. L'examen fœto-pathologique réalisé chez les vingt fœtus a montré l'existence d'un hygroma isolé chez seulement 3 d'entre eux.

L'étude par CGH-array a permis d'identifier des déséquilibres chromosomiques non répertoriés dans la base de données Database of Genomic Variants chez cinq de ces fœtus ayant présenté un hygroma au 1er trimestre de la grossesse (taux de détection : 25%). Les déséquilibres chromosomiques correspondent à des délétions localisées en 8p23 (235 kb), 19q13 (1,7 Mb), 4q34 (2,3 Mb), 12q21 (2,6 Mb) et 10q21 (12,5 Mb). Les délétions 19q13, 4q34 et 12q21 ont été observées chez des fœtus ayant présenté un hygroma associé à des malformations cérébrales ou cardiaques. Il n'a pas été observé de malformation majeure chez le fœtus porteur de la plus grande délétion (10q21).

Les résultats de cette étude suggèrent que la CGH-array est un complément important dans le bilan des anomalies de la clarté nucale du 1er trimestre de la grossesse à caryotype normal. Néanmoins, le taux de détection observé est probablement surestimé puisque l'étude a été réalisée uniquement pour des grossesses à issue défavorable. Par ailleurs, l'interprétation de certains résultats de CGH-array peut parfois être difficile. Ainsi, bien que cette étude montre l'intérêt de la CGH-array dans l'exploration des hyperclartés nucales, des études complémentaires sont nécessaires pour définir une conduite à tenir en fonction des différentes situations (anomalie de la nuque isolée ou signes associés, régression ou absence de régression de l'hyperclarté nucale).

session simultanée 5
Thème 5.Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

IMPACT DES MUTATIONS M.3243A>G ET M.8344A>G SUR LA SEGREGATION ET LA REPLICATION DE L'ADN MITOCHONDRIAL AU COURS DE L'OVOGENESE ET DE L'EMBRYOGENESE HUMAINE

S MONNOT (1), D SAMUELS (2), N GIGAREL (1), P BURLET (1), P VACHIN (1), L HESTERS (3), N FRYDMAN (3), R FRYDMAN (4), A BENACHI (4), AS LEBRE (1), M RIO (1), A ROTIG (5), A MUNNICH (6), JP BONNEFONT (6), J STEFFANN (7)

1. Université Paris-Descartes; Unité INSERM U781; Service de génétique médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
2. Center for Human Genetics Research, Department of Molecular Physiology and Biophysics, Vanderbilt University Medical Center, Nashville, USA
3. Service de Biologie et Génétique de la Reproduction, Hôpital Antoine-Béclère, CLAMART, France
4. Service de Gynécologie-Obstétrique et Médecine de la Reproduction, Hôpital Antoine-Béclère, CLAMART, France
5. Université Paris-Descartes; Unité INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
6. Université Paris-Descartes, Unité INSERM U781; Service de génétique médicale,, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
7. Université Paris-Descartes; Unité INSERM U781; Service de génétique médicale., Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France

Les mutations de l'ADN mitochondrial (ADNmt) sont responsables de maladies sévères à transmission maternelle. Les plus fréquentes d'entre elles sont le syndrome MELAS secondaire à la mutation m.3243A>G et le syndrome MERRF causé par la mutation m.8344A>G. L'hétérogénéité phénotypique de ces affections est liée à la variabilité de distribution tissulaire des copies sauvages et mutées de l'ADNmt (hétéroplasmie). Le risque de transmission de ces mutations est très élevé, amenant un grand nombre de couple à solliciter des procédures de diagnostic préconceptionel (DPC), prénatal (DPN) et préimplantatoire (DPI). La fiabilité de ces procédures se heurtent pourtant au manque de données sur le mode de ségrégation et les conséquences physiopathologiques des mutations de l'ADNmt au cours de l'ovogenèse et de l'embryogenèse humaine.
Afin de clarifier ces points, nous avons collecté des ovocytes (contrôles n:19; m.3243A>G n:12; m.8344A>G n:5), des embryons préimplantatoires (contrôles 9; m.3243A>G n:12; m.8344A>G n:12), et des globules polaires (GP, m.3243A>G n:36; m.8344A>G n:15). Le taux d'hétéroplasmie, et lorsque cela était possible, le nombre de copies d'ADNmt (CN) ont été quantifiés dans ces cellules.
L'étude du taux d'hétéroplasmie a montré que 1/ la ségrégation des mutations m.3243A>G et m.8344A>G s'effectue de manière aléatoire durant l'ovogenèse, 2/ le taux d'hétéroplasmie mesuré dans l'ovocyte et le GP correspondant peut varier de plus de 30% pour les 2 mutations, récusant l'utilisation du GP pour DPC, et 3/ la distribution du taux de mutation est homogène dans les différents blastomères de l'embryon précoce pour ces 2 mutations, validant la méthode de DPI.
L'analyse du nombre de copies d'ADNmt dans les ovocytes et les embryons préimplantatoires a mis en évidence que l'ADNmt CN 1/ est identique pour les ovocytes mutés et les ovocytes contrôles, suggérant que la présence d'une mutation de l'ADNmt n'impacte pas la réplication de l'ADNmt durant l'ovogenèse, 2/ est significativement augmenté chez les embryons préimplantatoires hétéroplasmiques m.3243A>G par rapport aux embryons témoins (pG (R2=0.42, pG et les contrôles, indiquant que l'induction de la réplication mitochondriale observée chez les embryons m.3243A>G était mutation spécifique.
Ces données valident la procédure de DPI, et récusent la procédure de DPC pour la prévention de la récurrence des mitochondriopathies. Elles suggèrent de plus, l'existence d'une induction de la réplication de l'ADNmt dans l'embryon précoce par certaines mutations de l'ADNmt, fonction de la nature et du taux de cette mutation.

session simultanée 5
Thème 5.Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

LA MONDIALISATION DES SERVICES DE REPROGENETIQUE : UNE ANALYSE THEMATIQUE DE L'ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES

C Bouffard (1), V Couture (1)

1. Service de génétique, Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada

Avec le diagnostic et le dépistage préimplantatoires, la reprogénétique occupe une place grandissante au sein de l'industrie du tourisme médical, en offrant la possibilité d'obtenir, à l'étranger, des services inaccessibles localement pour des raisons logistiques, juridiques ou économiques. Considérant les limites des connaissances développées sur la mondialisation des services de reprogénétique, les objectifs de cette communication sont : 1) de présenter l'état des connaissances sur les services reprogénétiques transfrontaliers et 2) d'entamer une réflexion éthique sur cette branche du tourisme médical. Matériel et méthode : Collecte et analyse thématique de la littérature sur les mouvements transfrontaliers associés à la reprogénétique à partir des principales bases de données en sciences médicales, sociales et juridiques : EBSCO (MEDLINE, CINHAL, etc.), OVID, SCOPUS, CAIRN et FRANCIS. Résultats : Dans la littérature, les services reprogénétiques sont souvent liés au phénomène plus vaste des soins reproductifs transfrontaliers (57 articles), mais très peu d'articles leur ont été exclusivement consacrés (4). Toutefois, deux thèmes principaux émergent de l'ensemble de la littérature. Le premier de ces thèmes touche à la description du phénomène. Trois sous-thèmes lui sont associés : la quantification du nombre d'utilisateurs, leurs motivations et leurs destinations. Le second thème concerne les problèmes normatifs liés à ces déplacements transfrontaliers. Celui ci se divise se divise en deux sous-thèmes : 1) l'analyse juridique du phénomène marqué par la diversité des encadrements nationaux et 2) les aspects éthiques par rapport à a) la charge psychologique pour les utilisateur(trice)s, b) le support médical et le suivi de services reçus à l'étranger, c) l'accessibilité de ces services et d) les conséquences de cette offre internationale de service sur les populations locales. Cette analyse thématique montre l'importance de disposer de données probantes pour bien rendre compte de la situation, d'autant plus que la grande variété d'encadrement des pratiques et les différents degrés d'accessibilité internationaux ont une influence importante sur les mouvements transfrontaliers d'experts, de matériel biologique et d'utilisateur(trice)s. Il pointe les limites potentielles des lois nationales, transnationales et internationales à protéger efficacement les enfants-à-venir. Conclusion : Les services reprogénétiques transfrontaliers ont peu été étudiés en tant que phénomène distinct bien qu'ils posent leurs propres défis éthiques, juridiques et logistiques. Cette singularité nous force à développer, au-delà du droit national, des mécanismes inédits qui pourront assurer le respect, l'autonomie et la dignité des personnes qui utilisent ces services et des enfant-à-venir.

session simultanée 9
Thème 3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

CAPTURE CIBLEE ET SEQUENÇAGE A HAUT DEBIT POUR LE DIAGNOSTIC DE MALADIES GENETIQUEMENT TRES HETEROGENES: BARDET-BIEDL ET AUTRES CILIOPATHIES

C Redin (1), S Le Gras (2), O Mhamdi (3), G Greff (4), AS Jaeger (4), E Scherrer (4), B Jost (2), C Stoetzel (5), H Chaabouni (3), H Dollfus (5), JL Mandel (1), J Muller (4)

1. Génétique humaine, IGBMC, Illkirch-Graffenstaden, France
2. Plateforme séquençage haut débit, IGBMC, Illkirch-Graffenstaden, France
3. Service des Maladies Congénitales et Héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
4. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaire de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Laboratoire de Génétique Médicale, Université de Strasbourg, Strasbourg, France

Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS) est une maladie autosomique récessive de la classe des ciliopathies, définie par des signes cliniques incluant: rétinopathie pigmentaire, obésité, polydactylie, hypogonadisme, déficit cognitif variable et anomalies rénales. BBS est caractérisé par une hétérogénéité génique très importante avec 16 gènes identifiés rendant compte de 70-80% des familles atteintes. La stratégie diagnostique actuelle de notre laboratoire couvre 40% des patients en se basant sur le séquençage des exons les plus fréquemment impliqués (exon 12 BBS1, 2 amplicons de BBS10 et toute la séquence codante de BBS12), complété par une analyse par puces SNP pour les patients consanguins, et séquençage des gènes BBS contenus dans les régions homozygotes. Cette stratégie insatisfaisante était justifiée par le nombre d'exons à analyser (274) dans une stratégie exhaustive. Afin de remédier à cette situation, nous avons développé un test utilisant la capture ciblée d'exons (système Sure Select) et le séquençage à haut débit (Illumina GAIIx). 29 gènes ont été sélectionnés pour le criblage, incluant les 16 gènes BBS ainsi que plusieurs gènes de pathologies ayant un phénotype proche comme la néphronophtise, le syndrome de Joubert et le syndrome d'Alström (ALMS1 séquence codante de 12,5kb).

Nous avons validé le test pour 14 patients à mutations connues (mutations ponctuelles, petites indels, délétions d'exons, à l'état homo ou hétérozygote). Nous l'avons ensuite appliqué à 36 patients sans mutations connues. Des mutations ont été retrouvées sur les 2 allèles dans 70% de ces cas. 3 patients soumis pour diagnostic BBS avaient en fait des mutations homozygotes troncantes du gène ALMS1. L'analyse des signes cliniques des patients montre que plus ils présentent des signes majeurs tels que définis par Beales, plus grandes sont les chances de détecter une mutation par ce test exhaustif. Ceci suggère qu'il n'y a certainement plus beaucoup de gènes BBS à identifier. Nous avons utilisé pour cette étude une stratégie de mélange (pooling) après étiquettage (tagging) des ADN, permettant d'analyser 12 patients par ligne de séquenceur, et donc potentiellement jusqu'à 96 patients par run. La profondeur de séquençage garantit pour plus de 97% des exons ciblés, une détection fiable des mutations, y compris délétions d'exons hétérozygotes. Les résultats pour 36 patients ont été obtenus en 3 semaines, en incluant préparation des librairies, séquençage et analyse bioinformatique. Ceci démontre l'extraordinaire efficacité de cette approche. Nous développons une stratégie similaire pour les ataxies, qui présentent une hétérogénéité encore plus grande (>60 gènes). La technologie est donc mature pour l'utilisation diagnostique et va pour un coût raisonnable révolutionner le diagnostic moléculaire de pathologies à forte hétérogénéité génétique. Il est urgent que les moyens nécessaires soient mise en place pour que ce potentiel soit réalisé au bénéfice des patients et [illegible]

session simultanée 9
Thème 3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

NOUVELLES TECHNOLOGIES DE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DES GENES BRCA: AMPLIFICATION PAR FLUIDIGM ACCESS ARRAY ET PYROSEQUENÇAGE PAR ROCHE/454 GS-FLX.

N Uhrhammer (1)

1. Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France

La recherche des mutations délétères des gènes BRCA est essentielle pour les familles à risque héréditaire de cancer du sein et/ou de l'ovaire. Afin d'offrir ce service aussi largement que possible, il est nécessaire de développer de nouvelles méthodes plus rapides et moins couteuses. Les technologies « next generation sequencing » ou « NGS » à haut débit devraient permettre à la fois le multiplexage des échantillons et un rendu fiable, rapide et économique des échantillons regroupés. Nous avons évalué la technologie Roche-454 en diagnostic génétique moléculaire.

Dans une étude pilote, 78 cas de cancer du sein familial ont été analysés à la fois en pyroséquençage et séquençage classique, après amplification individuelle de chaque amplicon. Dans un second temps, la technologie Access Array de Fluidigm a été employée pour l'amplification des exons BRCA avant pyroséquençage, pour 2 x 48 échantillons.

L'étude pilote nous a permit de confirmer les paramètres de validation pour chaque amplicon. Une couverture minimum de 40 lectures est nécessaire ; les variants sont retenus s'ils sont présents dans > 20 % des lectures et sur les deux brins. L'ensemble des 680 variants (polymorphismes, VSI et mutations délétères inclus) retrouvés par séquençage classique ont également été identifiés en pyroséquençage. Six homopolymères dans les séquences codantes posaient des anomalies d'analyse : en effet, certains signaux sont difficiles à quantifier et peuvent conduire à l'affichage de fausses ins/del par le logiciel d'analyse AVA. Un outil développé par notre équipe permet de présenter les données brutes des flowgrammes en histogramme, afin de différencier les séquences avec se distribuant en un seul groupe de valeurs (homopolymères non-mutés mais mal quantifiés) des séquences avec deux populations de valeurs (homopolymères avec délétion ou duplication).

Les données préliminaires d'amplification par AccessArray montrent une bonne efficacité d'amplification pour la plupart des séquences. Cette approche réduit les couts de réactifs et permet l'analyse de 48 échantillons multipléxés en environ 3 semaines.

En conclusion, le pyrosequençage Roche-454 nous semble une technologie attractive pour un diagnostic moléculaire rapide et économique, en particulier des gènes BRCA.

session simultanée 9
Thème 3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

SEQUENÇAGE HAUT DEBIT POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE MALADIES NEUROMUSCULAIRES.

V BIANCALANA (1), N VASLI (2), J BOHM (2), S LE GRAS (3), J MULLER (2), C PIZOT (2), B JOST (3), A ECHANIZ-LAGUNA (4), V LAUGEL (5), C TRANCHANT (4), F PLEWNIAK (3), S VICAIRE (3), JL MANDEL (6), J LAPORTE (2)

1. Dpt of Translational Medecine and Neurogenetics / Laboratoire Diagnostic Génétique, IGBMC, Inserm U964, CNRS UMR 7104, Université de Strasbourg, Collège de France/ Nouvel Hôpital Civil, CHU., Illkirch/ Strasbourg, France
2. Dpt of Translational Medecine and Neurogenetics, IGBMC, Inserm U964, CNRS UMR 7104, Université de Strasbourg, Collège de France, Illkirch, France
3. Dpt of Translational Medecine and Neurogenetics, IGBMC, Inserm U964, CNRS UMR 7104, Université de Strasbourg, Illkirch, France
4. Département de Neurologie, Hôpital Hautepierre, CHU, Strasbourg, France
5. Service de Pédiatrie, Hôpital Hautepierre, CHU, Strasbourg, France
6. Dpt of Translational Medecine and Neurogenetics, Laboratoire de Diagnostic génétique, IGBMC, CHRU Nouvel Hôpital Civil, Illkirch, Strasbourg, France

Les maladies neuromusculaires (NMD) forment un groupe hétérogène de maladies génétiques avec plus de 200 gènes en cause et une incidence supérieure à 1/3000. Le diagnostic de l'étiologie en cause permet de mieux définir la prise en charge et de prévenir les risques de récurrences. Ce diagnostic requiert des examens cliniques et paracliniques poussés et à ce jour le diagnostic moléculaire est proposé gène par gène, en commençant par le plus pertinent. L'hétérogénéité clinique et génétique complique les arbres décisionnels, par exemple il existe environ 14 gènes impliqués dans les myopathies congénitales. De plus certain très grand gène, comme celui de la Titine avec 363 exons, ne sont pas entièrement séquencés en routine diagnostique. En conséquence, le diagnostic moléculaire demande parfois plusieurs mois ou années et l'étiologie en cause demeure indéterminée pour au-moins 40% des patients.

Le Séquençage Haut Débit (SHD) permet la séquence en parallèle de plusieurs gènes, ce qui a été utilisé initialement au niveau recherche pour identifier de nouveaux gènes. L'utilisation du SHD a été également utilisé avec succès avec des études de génome ou d'exome complets, ou encore par capture et séquence ciblée de certains gènes pour détecter une mutation responsable d'une maladie monogénique, mais pas dans le domaine des NMD.

Nous rapportons une étude de faisabilité de l'approche de SHD après capture d'exons de 267 gènes impliqués dans des NMD, avec ou sans mélange codés des prélèvements des patients, et analyse sur Illumina GAIIx. Les seize patients inclus présentaient soit une pathologie musculaire avec différents types de mutations connues dans différents gènes, soit pas de mutation identifiée. Les interprétations ont été réalisées en aveugle pour tous les patients, en prenant en compte les données cliniques et le mode de transmission suggéré par les données familiales. Nous présentons les résultats de cette étude ainsi que les prédictions du classement des variants par un programme que nous avons développé.

session simultanée 9
Thème 3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

TECHNOLOGIES A HAUT-DEBIT ET DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA MALADIE DE CHARCOT-MARIE-TOOTH: L'EXPERIENCE MARSEILLAISE.

N Roeckel (1), C Boubaker (1), N Bonello-Palot (2), N Lévy (2), R Bernard (2), V delague (1)

1. UMR_S 910, Inserm/Université Aix-Marseille, Marseille cedex 05, France
2. Département de Génétique Médicale, AP-HM, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille cedex 05, France

La maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) est un groupe hétérogène de maladies héréditaires neuromusculaires, pour lesquelles des mutations ont été décrites dans une cinquantaine de gènes. La moitié des cas environ sont dus à une duplication de 1,5 Mb du segment chromosomique 17p11.2, contenant le gène PMP22. A l'exception de cette grande duplication, et de la délétion réciproque, responsable de la Neuropathie Héréditaire avec Hypersensibilité à la Pression (HNPP), les réarrangements génomiques de grande taille ne sont pas une anomalie moléculaire fréquente dans le CMT.

L'identification du défaut moléculaire à l'origine d'une maladie génétique est un pré-requis obligatoire pour un diagnostic moléculaire précis, le conseil génétique et la mise au point de traitements adaptés. Dans le CMT, il est estimé que le diagnostic moléculaire n'est pas connu pour plus de 40% des patients, soit parce qu'ils sont porteurs de mutations dans des gènes déjà identifiés, mais qui échappent aux méthodes courantes de diagnostic, ou, plus vraisemblablement, parce-que ces mutations sont situées dans des gènes non encore identifiés. Les technologies à haut-débit, telles que l'Hybridation Génomique Comparée (CGH) et le séquençage de deuxième génération direct ou après capture (NGS) ont connu un développement extraordinaire ces 5 dernières années et vont permettre d'apporter des réponses nouvelles au problème du diagnostic moléculaire dans le CMT.

Ainsi, et dans le cadre du projet européen NMD-CHIP, nous avons développé des puces Nimblegen dédiées, pour la CGH et la capture de séquence en solution, en vue de détecter des réarrangements de grande taille, et des mutations ponctuelles ou des petites insertions/délétions, respectivement, dans 51 gènes connus pour être impliqués dans la maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT).

Nous présentons les résultats de la recherche de remaniements de grande taille par CGH dans une cohorte de 80 patients, ainsi que la stratégie utilisée et les résultats préliminaires pour la capture de séquence. Nous discutons les avantages et les inconvénients de ces techniques à haut-débit et des problématiques nouvelles qu'elles soulèvent dans la cadre du diagnostic de la maladie de CMT.

session simultanée 9
Thème 3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

SUCCES DE L'APPROCHE PAR RECAPTURE CIBLEE SURESELECT (AGILENT) ET SEQUENÇAGE HAUT-DEBIT DANS LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DU SYNDROME DE LEIGH AVEC DEFICIT DE LA CHAINE RESPIRATOIRE

Z Assouline (1), M Jambou (1), M Rio (1), P De Lonlay (2), N Boddaert (3), V Procaccio (4), JP Bonnefont (1), A Munnich (1), A Rötig (5), AS Lebre (1)

1. Génétique, Université Paris Descartes, AP-HP Hôpital Necker-Enfants Malades et Inserm U781 et U1000, Départements de Génétique, Radiologie pédiatrique, Neurologie pédiatrique et des Maladies du développement, Paris F-75015, France
2. Maladies métaboliques, Université Paris Descartes, AP-HP Hôpital Necker-Enfants Malades et Inserm U781 et U1000, Départements de Génétique, Radiologie pédiatrique, Neurologie pédiatrique et des Maladies du développement, Paris F-75015, France
3. Radiologie, Université Paris Descartes, AP-HP Hôpital Necker-Enfants Malades et Inserm U781 et U1000, Départements de Génétique, Radiologie pédiatrique, Neurologie pédiatrique et des Maladies du développement, Paris F-75015, France
4. Génétique, Département de Biochimie et Génétique et UMR INSERM, U771-CNRS6214, CHU Angers, Angers, France
5. Inserm U781, Université Paris Descartes, AP-HP Hôpital Necker-Enfants Malades et Inserm U781 et U1000, Départements de Génétique, Radiologie pédiatrique, Neurologie pédiatrique et des Maladies du développement, Paris F-75015, France

Le Syndrome de Leigh (SL) est une maladie neurodégénérative héréditaire de l'enfant caractérisée par des lésions du tronc cérébral et/ou des noyaux gris centraux. Il existe une grande hétérogénéité génétique dans cette maladie avec l'implication possible de centaines de gènes. Ainsi, le SL a été associé à des mutations de l'ADN mitochondrial (ADNmt) mais aussi à des mutations de gènes nucléaires, certains étant impliqués dans la structure ou l'assemblage de la chaîne respiratoire (CR) mitochondriale, dans le cycle de Krebs ou dans le carrefour du pyruvate. A ce jour, un diagnostic moléculaire exhaustif de SL par séquençage Sanger est impossible du fait du très grand nombre de gènes candidats à séquencer. Notre but est i) de mieux caractériser les patients avec SL; ii) d'utiliser une approche de séquençage haut débit afin d'identifier le gène muté, proposer un conseil génétique et un diagnostic prénatal quand cela est possible.

Une première étude pilote a été réalisée sur 8 patients avec déficit isolé du complexe I de la CR et a consisté en la recapture ciblée par la technique SureSelect (Agilent) et le séquençage sur séquenceur Illumina GIIx de 87 gènes impliqués dans le SL. La sélection des patients a été basée sur des critères suivants i) une IRM cérébrale évocatrice de SL; ii) un déficit isolé du complexe I dans le muscle; iii) une exclusion de l'implication de l'ADNmt; iv) un défaut d'assemblage du complexe I identifié par BN-PAGE sur protéines extraites de fibroblastes de peau. Plus de 99.5 % des régions ciblées ont été capturées et séquencées avec une couverture et une qualité très satisfaisantes. La profondeur de couverture du séquençage était extrêmement élevée (moyenne x103). Les nouveaux variants ont été filtrés par comparaison avec dbSNP130, une base de données interne (composée de 32 exomes) et les données HapMap de 8 exomes. Parmi les variants identifiés, 1 à 9% étaient nouveaux. Les mutations causales dans les gènes NDUFS4, NDUFV1, NDUFA11, C8ORF38 ou NUBPL ont été identifiées chez 7 des 8 patients. Pour certains de ces gènes comme C8ORF38 ou NUBPL, un seul patient est décrit dans la litérature à ce jour.

Une seconde étude a été réalisée sur 25 patients avec divers déficits de la CR. Elle a consisté en la recapture ciblée et le séquençage de 195 gènes potentiellement impliqués dans le SL. Les résultats de cette étude seront présentés. Nos résultats démontrent l'intérêt et la puissance de cette approche. Il s'agit d'un excellent outil pour le diagnostic de routine du SL lorsque les patients sont bien caractérisés du point de vue clinique, radiologique et biochimique. Par comparaison avec l'approche exome, l'approche ciblée génère bien moins de nouveaux variants et permet d'identifier plus rapidement le gène muté. Elle a cependant des limites. Nous évaluons actuellement l'approche Raindance par PCR en gouttes sur un autre projet et nous discuterons des avantages et inconvénients de chacune de ces approches.

session simultanée 9
Thème 8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

MISE EN PLACE D'UNE STRATEGIE D'ANALYSE DIAGNOSTIQUE TRES HAUT DEBIT EN ONCOGENETIQUE

V Moncoutier (1), B Zeitouni (2), L Castéra (1), E Barillot (3), MH Stern (4), D Stoppa-Lyonnet (5), C Houdayer (6)

1. génétique, Institut Curie, Paris, France
2. U900, Institut Curie, Paris, France
3. U900, Institut Curie, Mines Paris Tech, Paris, France
4. U830, Institut Curie, Paris, France
5. génétique, Institut curie, Université Paris Descartes, Paris, France
6. génétique, Institut Curie, Université Paris Descartes, Paris, France

Le diagnostic génétique réalise une importante mutation avec l'introduction des séquenceurs haut débit. L'institut Curie dispose de 4 SOLiD/5500 et 2 Ion-PGM. Nous rapportons ici la construction d'un pipeline d'analyse haut débit autour de ces machines, dont la performance a été mesurée avec un panel d'ADNs de patients déjà étudiés en diagnostic. La qualité du séquençage sur SOLiDV3 a d'abord été validée en enrichissant les ADNs testés sur BRCA1/2 par PCR multiplex . La moitié des génotypes de référence a été divulguée au bioinformaticien afin de de définir l'algorithme d'alignement (BFAST) et les filtrages optimaux pour la recherche de variants. L'analyse faite en aveugle sur l'autre moitié a retrouvé la totalité des SNPs et indels avec une spécificité de 92.5% grâce à l'outil SAMTools et l'application de paramètres stringents de filtrage basés sur la moyenne et le ratio de l'allèle alternatif appelé. Les réarrangements de grande taille ont été trouvés en analysant les différences entre les distributions de couverture normalisée à l'échelle exonique entre les patients. Afin de définir l'enrichissement le plus performant en diagnostic, nous avons constitué un panel de 43 gènes d'intérêt. Les parties codantes et les promoteurs ont été enrichis avec la technologie Agilent (hybridation en phase liquide à l'aide de sondes complémentaires puis capture magnétique) et Halo Genomics (restriction suivie de circularisation et rolling cycle amplification). Agilent a montré une spécificité de 65% et une profondeur de couverture homogène et suffisante pour la recherche des variants. Cependant un biais de couverture brin-dépendant été observé. Le dessin des sondes de capture associé à la petite taille des lectures étant la cause principale, un nouveau dessin devrait régler ce problème. Grace à la mise en place d'un pipeline bioinformatique dédié à la recherche de mutations (BFAST+BWA, GATK, DESeq), l'ensemble des variants a pu être retrouvé . Concernant l'enrichissement Halo, seules 15% des lectures ciblent les régions d'intérêt, ce qui nous a amené à écarter cette technique. Un nouvel essai utilisant l'enrichissement RainDance (PCR simplex massivement parallèle) est en cours.

Les automates pré-séquençage sont maintenant à choisir. Il convient aussi d'interfacer le pipeline bioinformatique afin de permettre la prise en main par les techniciens et biologistes. L'objectif est de délivrer des données de qualité diagnostique sur 70 gènes (un exome à terme) pour plus de 1000 patients par an. Les délais d'analyse par cette approche dépassant les 3 semaines, un pipeline de moindre débit à temps analytiques courts (type 454 Roche) va être développé. C'est avec cet objectif que des tests sont en cours sur les deux Ion PGMs disponibles sur la plate-forme.

Cette complémentarité devrait offrir des capacités diagnostiques optimales, avec déplacement des compétences techniques et biologiques vers l'interprétation de la masse de variants identifiés.

session simultanée 9
Thème 3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

APPORT DU SEQUENÇAGE HAUT DEBIT AU DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DU SYNDROME DE LYNCH : IDENTIFICATION D'ALTERATIONS DELETERES ET RECHERCHE DE NOUVEAUX TYPES D'ALTERATIONS

J Tinat (1), F Charbonnier (1), S Coutant (2), R Marlin (3), G Bougeard-Denoyelle (1), P Chambon (4), S Rousseau (5), A Blavier (6), M Tosi (1), S Baert-Desurmont (1), T Frebourg (1), I Tournier (1)

1. Fédération de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U1079, Faculté de Médecine, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie, Université de Rouen, France
2. Inserm U1079, Faculté de Médecine, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie, Université de Rouen et CNR-MAJ, CHU de Rouen, France
3. Oncogénétique, CHU de Fort de France, France
4. Laboratoire de Biologie de la Reproduction Histologie Cytogénétique et Fédération de Génétique de Haute Normandie, CHU de Rouen, France
5. IntegraGen SA, Evry, France
6. Interactive Biosoftware, Rouen, France

Le syndrome de Lynch résulte de la mutation constitutionnelle de l'un des 4 gènes du système MMR de réparation de l'ADN. L'altération du système MMR induit une instabilité microsatellitaire ou phénotype RER et une perte d'expression protéique révélée par immunohistochimie. Cependant le criblage de la région codante des gènes MMR ne permet d'identifier une altération que chez 70 % des patients sélectionnés et il est légitime de penser que des altérations délétères puissent être localisées en dehors de ces régions. Nous avons évalué l'apport du séquençage haut débit pour identifier des altérations des gènes MMR à la fois dans les séquences codantes et non codantes mais également à distance. Vingt-quatre patients très évocateurs d'un syndrome de Lynch, sans altération détectée des gènes MMR par le réseau français des laboratoires ont été sélectionnés sur leur histoire personnelle et familiale, ainsi que sur leurs caractéristiques somatiques tumorales : perte d'expression de l'hétérodimère MLH1-PMS2 pour 7 patients et MSH2-MSH6 pour les 17. Les régions codantes et non codantes ainsi que 200 kb en amont et en aval des gènes MSH2-MSH6, MLH1, PMS2 et MSH3 ont été sélectionnées. Pour les gènes MSH2-MSH6 et MLH1, nous avons également ciblé 1581 régions hautement conservées au cours de l'évolution et situées jusqu'à 1 Mb de ces gènes. Après masquage des séquences répétées, nous avons réalisé une capture en phase liquide (Agilent) et séquencé environ 1 Mb par patient sur une plate-forme Illumina GAIIx à une profondeur de 200 à 300 x. Les données obtenues ont été analysées par le logiciel EVA (Exome Variant Analyser), développé par le département de bioinformatique de l'Université de Rouen pour l'interprétation des données d'exomes. Cet outil permet de trier les altérations identifiées selon leur type et leur localisation ainsi que de les filtrer selon le seuil de qualité obtenu, leur détection à l'état homozygote et leur description dans des bases de données de SNPs. Toutes les variations d'intérêt ont été interprétées avec l'aide du logiciel Alamut. A ce jour, l'analyse a révélé une mutation d'épissage dans le gène PMS2, une mutation d'épissage récurrente du gène MSH2 chez 2 patients, une mutation non-sens et une délétion d'une paire de base exonique dans le gène MSH2. Une variation de signification inconnue et une mutation faux-sens probablement délétère du gène MSH6, ont également été identifiées. Enfin, parmi les 42936 variations identifiées en dehors des régions codantes, aucune n'est située dans une région hautement conservée au cours de l'évolution et potentiellement impliquée dans la régulation à distance des gènes MMR ou à très grande distance des gènes MSH2-MSH6 et MLH1. Ces premiers résultats montrent la fiabilité du séquençage haut débit dans la détection des altérations constitutionnelles des gènes MMR et n'ont pas révélé de nouveaux types d'altérations touchant des régions qui ne sont pas analysées en routine diagnostique.

session simultanée 9
Thème 6. Dépistage, conseil génétique et éthique

POUR UNE BASE DE DONNEES CLINICO-GENETIQUES DE PATIENTS AVEC DEFICIT COGNITIF SUR UN MODELE RESEAU SOCIAL ET 23ANDME

JL Mandel (1), JS Beckmann (2)

1. Diagnostic génétique, CHU Strasbourg, IGBMC (Inserm U964, UMR 9104 CNRS et Université de Strasbourg et Collège de France, Strasbourg et Illkirch, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Vaudois et Université de Lausanne, CH 1011 Lausanne, Suisse

L'essor des diagnostics par CGH array et celui prévisible à court terme du séquençage à haut débit va conduire à un nombre rapidement croissant de diagnostics moléculaires pour des patients avec déficit cognitif, avec ou sans autisme et troubles du comportement. Ceci sera évidemment utile pour le conseil génétique et pour trouver une première réponse aux interrogations des familles. Mais l'extraordinaire hétérogénéité génétique des déficits cognitifs va rendre très difficile l'établissement pour chaque cause spécifique (maladies génomiques à CNV récurrente, formes apparemment ou certainement monogéniques) des relations génotype-phénotype et de son histoire naturelle, de la variabilité liée à la nature de la mutation pour un gène donné, et de paramètres essentiels tels que la pénétrance. Cette très grande complexité va rendre quasiment impossible des essais cliniques, même en open label, sauf pour les plus fréquentes de ces maladies ou celles très rares pour lesquelles une stratégie thérapeutique évidente pourra être proposée. Les éventuels traitements seront donc symptomatiques sans possibilité d'évaluation de l'efficacité éventuellement différentielle selon les causes génétiques. Vu la diversité des causes il faudrait pouvoir disposer de bases de données clinico-génétiques pour plusieurs dizaines de milliers de patients avec diagnostic moléculaire (les données CGH de 36 000 patients ont été utilisées par Jacquemont et al. 2011, pour identifier des cohortes de patients avec del ou dupl 16p11.2 permettant une première analyse des effets phénotypiques de ces 2 maladies génomiques,parmi les plus fréquentes). On connait également la difficulté d'établir des bases de données patients pérennes en milieu hospitalier, notamment en France (problèmes de coût, de temps de personnel, considérations éthiques…). Nous souhaitons proposer en alternative un nouveau type de base de données patients pour les déficits cognitifs, basée sur un modèle de réseau social et aussi sur celui de 23andMe (cf les études récemment publiées par cette compagnie de tests génétiques DTC). La majorité des informations pour chaque patient seraient entrées par la famille concernée dans un dossier web privé avec contribution éventuelle de professionnels agréés par la famille. Les contacts entre familles avec le même problème génétique pourraient se faire de manière initialement anonyme (comme pour le contact entre "cousins" potentiels sur 23andMe), ce qui permettrait de créer des microréseaux de partage d'information, où pourraient être associés des professionnels (il est impensable d'avoir autant d'associations de familles que de causes génétiques!). Les données anonymisées de cette base pourraient être accessibles aux professionnels souhaitant réaliser une étude spécifique (après avis d'un comité mixte avec experts et représentants des familles). Les familles intéressées à participer à de telles études de manière plus directe le feraient de manière volontaire.

INDEX DES AUTEURS

A

ABADA 95
ABDELHEDI 97
ABERMIL 82
ABOURRA 93
AISSAT 65
AKARSU 8
ALANAY 8
ALANIO 63
ALBY 61
ALESSI 45
ALIX 3, 20
AMBLARD 93
AMIEL 7, 20, 29, 40
AMOUYEL 37, 45
ANDRE 26
ANDRE 24
ANDRES 68
ANDRIEU 88
ANDRIEUX 28, 35, 73, 93
ANTIGNAC 10, 11, 56
AOUTIL 52
ARNAUD 7, 11, 46, 61, 66, 88
ARNOLD 40
ARNOULT 95
ARVEILER 24, 35
ASSOULINE 105
ATTANASIO 55
ATTIE 12
ATTIE-BITACH 10
ATTIE-BITACH 8, 59
AUBRY 59
AUDREZET 54
AURY-LANDAS 80
AYME 1
AZIZA 63
AZZI 91

B

BABIN 24
BABONNEAU 50, 51
BACCINI 85
BAERT-DESURMONT 107
BANDIERA 6, 71
BANNWARTH 52, 70
BARILLOT 106
BARROIS 78
BARTOLI 68
BARUCHEL 81
BASTARD 85
BAUJAT 17, 29
BAUMANN 17
BAZIN 59, 61, 93
BEALES 8, 101
BECKER 93
BECKMANN 73, 108
BEDNAREK 41
BEGUIN 66
BELAUD-ROTUREAU 98
BELLET 1
BEN KHELIFA 95
BEN YAOU 16
BENACHI 99
BENETEAU 63
BENKO 55
BENLIAN 59
BENSIGNOR 26
BERI 41
BERI-DEXHEIMER 35
BERLAND 3
BERNABE GELOT 66
BERNARD 20, 26, 104
BERNOIS 76
BEROUD 16
BERR 37
BERTHET 88
BERTOLOTTO 14
BERTRAND 45
BESNARD 81
BESSIERES 59, 61
BIANCALANA 103
BIECHE 15
BIETH 17
BIGORRE 12
BILAN 33, 34
BLANCHET 11, 12
BLAVIER 107
BLOCH-ZUPAN 38
BOBER 3
BOCCIO 82
BODDAERT 105
BOESPFLUG-TANGUY 22
BOHM 103
BOISSEL 19
BOLE-FEYSOT 10, 11
BOMBOIS 37
BONADONA 88
BONELLO-PALOT 70, 104
BONNE 16
BONNEFONT 99
BONNET 41, 78
BONNIERE 61
BORG 3
BORGES-CORREIA 67
BORREGO 40
BOUATIA-NAJI 39
BOUBAKER 104
BOUCHET-SERAPHIN 75
BOUDJARANE 85
BOUFFARD 100
BOUGEARD 80
BOUQUILLON 73
BOURDEAUT 83
BOURDON 78
BOURGERON 23
BOURNAZEAU 59
BOURRAT 26
BOURROUILLOU 93
BOUSSION 82
BOUTE 59
BOUTOLEAU-BRETONNIERE 37
BOUVET 44
BOUVIER 59, 63
BOWN 86
BRANDEL 50
BRESSAC-DE PAILLERETS 14, 78, 80
BRICE 24, 91
BRIOUDE 91
BRISSET 93
BRONNER 78
BRUGIERES 80
BUCOURT 61
BUECHER 88
BUENERD 63
BUFFET 82
BUHLER 57, 66
BUISSON 78
BURGLEN 81
BURLET 99
BURNICHON 82
BUSA 31

C

CACCIAGLI 31
CACHEUX 25
CADINANOS 68
CAGNARD 97
CALLEBERT 23
CALLIER 7, 93
CAMPION 37
CANO 70
CAPTIER 12
CARABLONA 66
CARBONNE 59
CARDOSO 66
CARIOU 7
CARLIER 69
CARON 80, 88
CARPENTIER 11
CASSINAT 81
CASTERA 106
CASTONGUAY 30
CAU 68
CAUMES 17
CAUX 84
CAVE 81
CECCHERINI 40
CERESUELA 52
CHAABOUNI 101
CHABROL 70
CHAKRAVARTI 40
CHAMBON 107
CHANTOT-BASTARAUD 91
CHARLET 1
CHARRAUD 33

CHARRON 51
CHASTE 23
CHAUSSENOT 52, 70
CHELBI 75
CHEVROLLIER 70
CHEVY 59
CHIKHAOUI 16
CHOMIENNE 81
CHOUERY 22
CLAUSSMANN 5, 72
CLEMENSON 59
CLERGET-DARPOUX 3, 40
COBO 68
COCHET 41
COENE 8
COESLIER-DIEUX 17
COHEN 45
COHEN-AKENINE 76
COLAS 84, 88
COLIN 8
COLLEAUX 19
COLLET 12
COPIN 64
CORDIER 9, 20, 49, 59
CORMIER-DAIRE 10, 17, 20, 29
COSTA 65
COSTES 65
COUBES 61
COUET 33
COULET 78, 84
COUPIER 48, 80, 83, 88
COUPRY 24, 66
COUTANT 37, 107
COUTTON 95
COUTURE 100
CROISILE 37

D

DAHAN 12
DARD 41
DARTIGUES 37
DAUCHEL 37
DAVID 17, 58, 59
DAVIS 8
DE BECDELIEVRE 65
DE BLOIS 29
DE BRAEKELEER 86, 87
DE CARLOS 68
DE FREMINVILLE 32
DE LONLAY 105
DE MAS 85
DE PONTUAL 7
DE SANDRE-GIOVANNOLI 31
DE TAYRAC 44
DECARPENTRIE 90
DECHELOTTE 59
DEELCHAND 69
DEGORCE-RUBIALES 26
DELABESSE 85
DELACOURT 17
DELAGUE 104
DELAHAYE 59
DELATTRE 83
DELEZOIDE 17, 61, 63
DELORME 23
DELPHIN 77
DELRUE 20, 35
DEMAY 16
DEMONGEOT 6
DEMURGER 98
DEPETRIS 68
DEPIENNE 91
DERBOIS 26
DESHAYES 76
DESQUIRET-DUMAS 52
DEUGNIER 44
DEVISME 63, 64, 75
DEVOS 52
DHAENENS 52
DHOMBRES 1
DI COSTANZO 76
DIEUX 59
DIEUX-COESLIER 28
DIJOUD 3, 59
DJOUAD 12
DO NGOC THANH 17
DOCO-FENZY 41
DOLLFUS 5, 38, 72, 101
DORAY 12
DORBOZ 22
DOUET-GUILBERT 86
DROUIN 7
DUBOURG 58
DUGAST 88
DUGUEPEROUX 54
DUPE 58
DUPONT 97
DUPUIS GIROD 49
DUPUY 45
DURAND 5, 8, 24
DURR 24, 50, 69

E

ECHANIZ-LAGUNA 103
ECLACHE 85
EDERY 3
EGEA 32
EGLY 19
EL WALY 57
ELKHATTABI 97
EMMERICH 45
ENCHA-RAZAVI 8, 59, 61
ERMAKOV 12
ESPIL-TARIS 52
ESTOURNET 17
ETARD 38
ETCHARRY-BOUYX 37
EUDES 90
EVELLIN 41

F

FAIVRE 17
FALLET-BIANCO 61
FANEN 65
FAUCHEREAU 23
FAUCONNIER 25
FAURE 25
FAVIER 82
FEINGOLD 50
FENNETEAU 81
FEREC 54
FERKAL 15
FERT-FERRER 93
FILHOL 10
FISCHER 26
FLAMAN 80
FLORI 17, 93
FONTAINE 26
FORLANI 24
FOURDRINOY 49
FOUREST-LIEUVIN 25
FRAGAKI 52, 70
FRANCANNET 17, 59
FRANQUET-ANSART 64
FREBOURG 37, 80, 107
FREIJE 68
FRENAY 88
FRESSART 51
FRICKER 88
FRISCHMANN 49
FROGUEL 73
FRYDMAN 99

G

GAIGNARD 52
GAILDRAT 78
GAILLARD 17, 35, 41, 59, 63
GALIBERT 26
GALIETTA 65
GARGIULO 49, 50
GAUTHIER-VILLARS 83, 88
GEKAS 30
GENEPSO 88
GENEVIEVE 7
GENEVIEVE 12, 20, 46
GENIN 44
GEOFFROY 38
GERARD 61
GERBER 77
GERMAIN 20, 45, 61, 63, 95
GESNY 61
GESTA 88
GICQUEL 58
GIGAREL 99
GILBERT-DUSSARDIER 33, 34
GILLERON 52
GILSON 74
GIMENEZ-ROQUEPLO 82
GIRARD 71
GIRODON 65

GIULIANO 17
GLADIEFF 88
GODET 41
GOIZET 24, 66
GOLDENBERG 7, 20, 59
GOLOVKINE 41
GONZALES 8, 17, 59, 61,75
GOOSSENS 35, 65
GORDON 55
GOUBRAN-BOTROS 23
GOUDEFROYE 61
GOUSSOT SOUCHET 97
GRALL 26
GRANGER 51
GREFF 101
GRIGORESCU 59
GROND 26
GRUCHY 59
GUAGUERE 26
GUIBAUD 3
GUICHET 95
GUILLEMIN 35
GWANG-JIN 26

H

HADDAD 57
HAMMOUTENE 81
HAMROUN 16
HANEIN 6, 77
HANNEQUIN 37
HARBUZ 33, 95
HARDOUIN 78
HARDY 52
HAREWOOD 73
HARROCHE 12, 29, 61
HARVEY 59
HASHIMOTO 19
HATEM 71
HAUSSER 26
HEIDET 11, 56
HENNEBICQ 95
HENNEKAM 8
HENRION-CAUDE 6, 7, 40, 71
HENRY 35, 69, 98
HERBRECHT 23
HERLIN 12
HERSON 50
HESTERS 99
HIDDEN LUCET 51
HINZPETER 65
HIPPOLYTE 73
HITTE 26
HOARAU 52
HOFSTRA 40
HOLDER 17
HOSSEINI 35
HOUDAYER 49, 78, 106
HOUFFLIN 64
HUBER 10
HUBER-LEQUESNE 17
HUBERT 66
HUGUET 23
HUIART 48, 88

I

ICHKOU 61
ISIDOR 61, 81

J

JACOB 59
JACQUEMONT 20, 73, 108
JACQUETTE 20
JAEGER 101
JAILLARD 98
JALKH 22
JAMBOU 105
JAMET 38
JANNOT 40, 71
JARAMILLO 86
JARDEL 52
JEANNE PASQUIER 63
JEANNE-PASQUIER 59
JEANPIERRE 10, 11
JEUNEMAITRE 82
JOLY-HELAS 93
JONARD 52
JONVEAUX 35, 41
JORIOT 64
JOSSIC 59, 61
JOST 103
JOUANNIC 59
JOUANOLLE 44
JOUBERT 10, 59, 101
JOUK 3, 63
JOYE 59
JULIAN-REYNIER 48

K

KAPLAN 77
KATSANIS 8
KAYIARANGWA 17
KEREN 91
KITZIS 33, 34
KNOLL-GELLIDA 24
KOKI 46
KOMAJDA 51
KOSCINSKI 95
KRIEGER 78
KRYZA-BOUTRY 9
KURY 26
KUTALIK 73

L

LABALME 3
LACAILLE 17
LACAMPAGNE 25
LACHENAUD 81
LACOMBE 20, 24
LAFAGE POCHITALOFF 85
LAFRAMBOISE 30
LAGOUTTE 26
LAMBERT 37, 45
LANDAIS 41
LANNOY 41
LANTIERI 15
LAPIERRE 29
LAPLANCHE 12, 50
LAPORTE 103
LAQUERRIERE 63
LAQUERRIERE 59
LARQUEY 41
LASSET 80, 88
LATHROP 26, 45
LAUGEL 38, 103
LAUNAY 23
LAURENDEAU 15
LAVIE 24
LE BOUC 91
LE BOURGEOIS 17
LE CAIGNEC 35
LE FLIBLEC 17
LE GALLO 26
LE GRAS 101
LE GUERN 59
LE MERRER 17
LE QUAN SANG 20
LEBBAR 97
LEBOYER 23
LEBRE 52, 99, 105
LECARPENTIER 88
LECERF 35
LEFOL 78
LEGALLIC 37
LEGENDRE 61
LEHEUP 35, 81
LEMEUR 93
LEMIERE 23
LEMPP 41
LEONE 78
LEPORRIER 59
LEQUIN 83
LEROUX 80
LEROY 15
LESCA 9, 49
LETENNEUR 45
LETESSIER 97
LETEXIER 37
LEUTENEGGER 3
LEVY 76, 84, 90
LEVY 22, 68, 104
LIDEREAU 78, 88
LIQUIER 93
LOEUILLET 63
LOGET 17, 59, 61, 98
LOISEAU 71
LONGEPIED 90
LONGY 88
LOPEZ-OTIN 68
LORTHOLARY 88

LUCAS 98
LUNARDI 25, 52, 95
LUPORSI 88
LYONNET 6, 7, 8, 20, 29, 40, 71

M

MACE 59
MACH 91
MADARIAGA 56
MAGDINIER 74
MAILLARD 73
MALAN 29
MALINGE 63
MALLET 51, 55
MANDEL 101, 103, 108
MANOUVRIER 64
MARANDA 30
MARCAILLOU 3
MARION 5, 38, 72
MARLE 93
MARLIN 12, 52
MARTIN 65
MARTIN-COIGNARD 61
MARTINET 93
MARTINOVIC 11, 17
MARTY 25
MASLIAH-PLANCHON 15
MASSE-MOREL 40
MASSON 10
MATHIEU 17
MAZOYER 78
MBASSI 46
MEGARBANE 90
MEGARBANE 22
MERCIER 58
MERDASSI 95
METZLER-GUILLEMAIN 90
MHAMDI 101
MICHEL 59
MICHON 37
MIGNOT 81
MISSIRIAN 31
MITCHELL 90, 95
MOCHEL 69
MOCKEL 5
MOLINA-GOMES 93
MONCLA 31
MONCOUTIER 78, 106
MONDAIN 12
MONNIAUX 74
MONNOT 99
MORANGE 45
MORCET 44
MOREAU 31
MORERE 74
MORINIERE 56
MOSCA 93
MOSSER 44
MOTTE 41
MOURET-FOURME 88
MOUSSON DE CAMARET 52
MUGNERET 93
MULLER 38, 41, 78, 101, 103
MUNNICH 6, 7, 8, 29, 40, 71, 105
MUSTJOKI 86, 87

N

NAMPOOTHIRI 3
NAU 82
NAVARRO 68
NELSON 16
NETCHINE 91
NGONGANG 46
NGUYEN 69
NICOULEAU 77
NITSCHKE 10, 11
NOGUES 88
NOMO 46
NUSBAUM 29

O

OBRINGER 5
OCHOA 86
ODENT 58
OGUR 8
OLRY 1
ORTONNE 15
OSORIO 68
OTTAVIANI 74
OUALHA 66
OUDOT-MELLAKH 45
OUFADEM 7
OZILOU 29

P

PAGAN 23
PALLESI-POCACHARD 66
PANAYOTIS 67
PAQUET 37
PAQUIS-FLUCKLINGER 52, 70
PARC 66, 84
PARFAIT 15
PARIENTE 37
PARISOT 11
PASMANT 15, 81
PASQUIER 35, 98
PATRIER 59
PAYET 93
PELET 20, 40
PELLEGRINI 48
PELLEGRINO 66
PELLETIER 38
PELLISSIER 70
PELLUARD 59
PENTHER 85
PEREZ 61
PEREZ 81
PERRAULT 10, 77
PERRIN 44, 102
PETIT 28
PHILIP 20, 31, 81
PIEDBOEUF 30
PIERRON 83
PILLIOD 24
PIN 26
PINSON 20, 61
PIZOT 103
PLANCHAIS 26
PLEWNIAK 103
POCH 38
POIRSIER 63
POISSON 20, 54
POPOVICI 31
PORKKA 86
POTTIER 37
POUGET 70
PRIEUR 17, 32
PROCACCIO 52, 70, 105
PRODROMOU 48
PRUVOST 10, 11
PUECHBERTY 93
PUTOUX 8

Q

QUELIN 59, 61, 98
QUILICHINI 93

R

RADNER 26
RAGON 93
RAOUL 29
RATH 1
RATIE 58
RAULT 54
RAY 95
RAZAVI 75
REDIN 101
REMENIERAS 78
RENARD 84
REPRESA 66
REVILLION 78
REYMOND 73
REYNIER 52
RICHARD 51
RIFAI 71
RIGAL 59
RINALDI 69
RIO 19, 99
RIVAL 35
RIVIER 46
ROBY 41
ROCHE 77
ROCHER 52
RODRIGUEZ 22
ROECKEL 104
ROLL 68
ROLLET 95

ROMANA 29
RONCELLIN 82
ROSEMBLUM 50
ROSSI 17
ROSSIGNOL 91
ROTIG 99
ROULEAU 78
ROUME 20
ROUSSEAU 3, 30, 37, 107
ROUSSEY 54
ROUVET 3
ROUX 67
ROUX-BUISSON 25
ROUZIER 70
ROVELET-LECRUX 37
ROWE 86
ROZET 10, 77
RUBERG 6

S

SABBAGH 15
SAHBATOU 3
SAINT-LEGER 74
SALEM 22
SALHI 59
SALIOU 54
SALOMON 10, 11, 17
SAMUELS 99
SANCHEZ 12, 20
SANLAVILLE 2, 3, 9, 20, 49, 93
SARDA 12, 20, 46
SATRE 95
SAUDOU 67
SAUNIER 10, 11
SAUT 45
SCHAERER 50
SCHERRER 101
SCHISCHMANOFF 84
SCHLUTH-BOLARD 9, 74
SCHMIT 41
SCOTET 54
SENEZUK 41
SETA 75
SEVENET 78
SIFFROI 66, 91
SIGAUDY 17
SIMIAN 82
SIMON-BOUY 76
SINILNIKOVA 78
SIQUIER-PERNET 19
SLAMA 52
SOBOL 78
SOKOLOWSKA 78
SONDO 65
SOTO ARES 64
SOUBRIER 78, 84
STEFFANN 99
STEICHEN 3
STERN 106
STEVANIN 24
STOETZEL 5, 38, 72, 101
STOPPA-LYONNET 78, 88, 106
STRAHLE 38
STRAUSS 38, 88
STREICHEMBERGER 90
STRULLU 81
STRUSKI 85

T

TABET 93
TAINE 35
TANTAU 61
TENNEVET 88
THAUVIN 37, 61
THAUVIN-ROBINET 55
THOMAS 8, 12, 26
THOMAS-ANTERION 37
TILL 9, 20, 49
TINAT 107
TINGAUD-SEQUEIRA 24
TORES 10
TOSI 78
TOURAINE 3, 32, 63
TOURNIER 80
TOUSSAINT 47
TOUTAIN 3
TOUZOT 81
TRANCHANT 103
TRAVERS 82
TREGOUET 45
TRIKI 95
TSATSARIS 97
TUBACHER 3

U

UHRHAMMER 102

V

VACHIN 99
VALABREGUE 69
VALEYRIE-ALLANORE 15
VALLEE 64
VALLEE 30
VAN HAERINGEN 7
VARELA 68
VASLI 103
VEKEMANS 7, 8, 29, 61
VENISSE 82
VENTURA 7
VERLOES 46, 81
VERSCHUEREN 70
VERT 78
VIALARD 93, 95
VICAIRE 103
VIDAUD 15, 81
VIGNERON 35
VILLARD 31, 57
VILLE 59
VINCENT 12, 46, 59
VINCENT-DELORME 28
VIOT 59, 61
VIVILLE 95
VUILLOT 34

W

WALLON 37
WARY 69
WATRIN 57
WILLEMS 12, 20
WINEY 8
WISE 3
WOLF 59
WOLKENSTEIN 15
WONG 59
WONKAM 46

Y

YAO 7

Z

ZACHAR 63
ZALA 67
ZAMECNIKOVA 86, 87
ZARHATE 10, 11
ZARHRATE 19
ZATTARA 85
ZECHNER 26
ZEITOUNI 106
ZELENIKA 45
ZIMMERMANN 26
ZOUARI 95
ZUFFEREY 73

INDEX PAR THEME

Thème 1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme……3, 5, 10, 12, 15, 16, 17, 19, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 38, 73, 77

Thème 2.Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomique……9, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 91

Thème 3. Pangénome, haut débit et génétique des populations……2, 37, 39, 40, 41, 43, 44, 45, 101, 102, 103, 104, 105, 107

Thème 4. Gènes, chromosomes et cancer……14, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 88

Thème 5.Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire…76, 90, 93, 95, 97, 98, 99, 100

Thème 6. Dépistage, conseil génétique et éthique……46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 54, 108

Thème 7.Développement et foetopathologie……7, 8, 11, 55, 56, 57, 58, 59, 61, 63, 64, 75

Thème 8. Recherche translationnelle Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques…….1, 6, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 74, 78, 106

Président du Comité Scientifique :
Nicolas LEVY

Présidente du Comité d'Organisation :
Anne MONCLA

6èmes ASSISES DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE

2-3-4 FÉVRIER - 2012
PALAIS DES CONGRÈS
MARSEILLE

QR-code

RECUEIL DES POSTERS

www.assises-genetique.org

Palais des Congrès - 2 boulevard Rabatau - Parc Chanot - 13008 Marseille

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme - de P001 à P256

P001 - 8 nouvelles mutations du gène RAI1 chez des patients atteints du syndrome de Smith-Magenis et non porteurs de la délétion de la région chromosomique 17p11.2 - Christèle Dubourg

P002 - Congenital neutropenia with retinopathy, a new phenotype without mental retardation caused by VPS13B mutations - Lucie Gueneau

P004 - Dysplasie mésomélique de Fryns : une nouvelle famille. - Annick Toutain

P005 - Identification par MLPA de délétions/duplications d'un ou plusieurs exons du gène NF1 dans la neurofibromatose de type 1 - Apolline Imbard

P006 - Tour du génome mitochondrial chez une patiente Tunisienne atteinte de MELAS : Nouvelle mutation au niveau du gène de l'ARNt val mitochondrial.

P007 - La mutation mitochondriale m.3337G> A du gène de la ND1 et son association avec le syndrome de Wolfram et de cardiomyopathie chez un patient Tunisien.

P008 - Implication d'un même résidu du TNFRSF1A dans des maladies inflammatoires mendéliennes et multifactorielles - Isabelle Jéru

P009 - Identification d'un nouveau gène de déficience intellectuelle syndromique par analyse combinée de cartographie par autozygotie et séquençage d'exome : TTI2/C8orf41 - Maéva LANGOUET

P010 - Vers des corrélations génotype-phénotype dans les mutations du gène GFM1 - A Rötig

P011 - Identification par séquençage « exome » de mutations du gène MRPL3 dans une famille de cardiomyopathie d'origine mitochondriale - A Rötig

P012 - Mutation du facteur d'élongation de la traduction mitochondriale EFTs dans une famille de défaillance hépatique sévère. - A Rötig

P013 - Etude des mutations dans le gène de l'histidase (HAL) chez des individus atteints d'hyperhistidinémie avec ou sans troubles neurologiques - Jean-Louis Mandel

P014 - Pathologie Biostructurale de la rupture du pont disulfure 225S-S282 de la protéine HFE : le cas du variant p.Arg226Gly - Jacques Rochette

P015 - Prévalence des grands réarrangements du gène MYBPC3
dans la Cardiomyopathie Hypertrophique - Gilles MILLAT

P016 - Neuf années d'expérience dans le diagnostic génétique de l'acrodermatite entéropathique - Sébastien KÜRY

P017 - Diagnostic moléculaire de la Tyrosinémie héréditaire de type 1 en France: Spectre et fréquence des mutations identifiées sur le gène FAH - Anne SPRAUL

P018 - Short stature and mutations in the ghrelin receptor (GHSR) gene - Marie Legendre

P019 - Contribution of GH and GHRHR mutations to isolated growth hormone deficiency – Identification and functional characterization of new variants - Marie Legendre

P020 - Estimation de la prévalence de la mutation p.G352fsdelG du gène PAH de la phénylcétonurie dans la population marocaine - afaf lamzouri

P021 - Domaine basic de MITF : variations génotypiques et phénotypiques dans le syndrome de Tietz et le syndrome de Waardenburg - Véronique Pingault

P022 - Analyses moléculaires des gènes de la Parkine, PINK1, DJ-1 et de la mutation G2019S de LRRK2 dans les familles européennes et nord-africaines atteintes de la maladie de Parkinson - Suzanne Lesage

P023 - Spectre clinique et mutationnel de la glycogénose cardiaque
associée aux mutations du gène PRKAG2 - Julien THEVENON

P024 - Biochemical management in hepatorenal tyrosinemia : a report of eighteen cases in algerian children - LYECE YARGUI

P025 - CCDC39 and CCDC40 mutation spectrum in primary ciliary dyskinesia – Phenotype: genotype correlation - Estelle Escudier

P026 - étude de l'implication du gène NHS dans les cataractes congénitales isolées - Annick Toutain

P027 - Syndrome de Pitt Hopkins : score diagnostique et stratégie d'analyse moléculaire du gène TCF4 - Sandra Whalen

P028 - Développement d'un outil d'aide au diagnostic dédié aux pathologies rétiniennes héréditaires - Maxime HEBRARD

P029 - Mutations dans le domaine TGFβ binding protein-like 5 de FBN1 responsables des dysplasies géléophysiques et acromicriques. - Carine Le Goff

P030 - Le diagnostic phénotypique de l'homocystinurie dans notre pratique biologique : Analyse de notre expérience - Lyèce Yargui

P031 - New Gain of functions mutations in PCSK9 and their impact in familial hypercholesterolemia - Marianne Abifadel

P032 - Etude moléculaire du gène PFKM chez 5 patientes présentant une maladie de Tarui - François Petit

P033 - Le déficit en phosphoglucomutase : une piste d'exploration des myopathies non étiquetées - François Petit

P034 - Déficit en glycogénine musculaire et anomalies de la voie de synthèse du glycogène - Aurélie Hubert-Buron

P035 - A functional variant of CYP4F2 involved in the ω-oxidation of very long chain fatty acids is associated with childhood cerebral form of X-linked Adrenoleukodystrophy - Mathieu Barbier

P036 - Prévalence des mutations de la neurokinine B et de son récepteur NK3R dans une cohorte de 193 patients présentant un hypogonadisme hypogonadotrope normosmique congénital isolé (nCHH) - Anne GUIOCHON-MANTEL

P037 - Observation familiale rare du syndrome WT membres sang.

P038 - Observation rare du syndrome Bosma arhinia microphtalmie.
Rare observation of Bosma Arhinia microphtalmia syndrome. - Siham Chafai Elalaoui

P039 - Atteintes rénales sévères au cours du syndrome de Kabuki - Jean-Benoît Courcet

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme - de P001 à P256

P040 - Analyse de variants du gène MBNL1 : effet protecteur sur l'expression de la dystrophie myotonique de type 1 - vincent Huin

P041 - Génotype et phénotype des déficits en adénine phosphoribosyltransferase : étude de 40 familles - Irène Ceballos-Picot

P042 - Efficacité du Bevacizumab pour le traitement de la maladie de Rendu-Osler. Etude de Phase II. - Sophie Dupuis-Girod

P043 - THE ICS -INSTITUT CLINIQUE DE LA SOURIS- GENETIC ENGINEERING and MODEL VALIDATION DEPARTMENT: GENERATION OF CUSTOMIZED AND READ-TO-USE GENETICALLY ENGINEERED MICE - Marie-Christine Birling

P044 - Genetic analysis in independent patients with Left ventricular non compaction: yield of mutation screening and identification of RBM20 as a new gene involved in the disease - Philippe Charron

P045 - Une mutation ponctuelle récurrente du gène PRKAR1A à l'origine d'acrodysostose avec résistance multiples aux hormones signalant par la voie GPCR-Gsa-cAMP-PKA - Caroline Silve

P046 - Recherche de nouveaux gènes impliqués dans les rétinites pigmentaires autosomiques récessives - Béatrice Bocquet

P047 - Le syndrome de Marfan : aspects pédiatriques à partir de l'expérience du centre de compétence de Rennes - Gwenaele Hubert-Le Dorze

P048 - Observation familiale de syndrome de Rubinstein-Taybi par mosaïcisme germinal

P049 - Hémochromatose : profil des patients C282Y/H63D inclus en protocole de saignées - Virginie Scotet

P050 - Aspects neuroradiologiques (IRM anatomique et Voxel Based Morphometry) dans la forme infantile de la maladie de Steinert: une série de 10 patients.

P051 - Anévrisme de l'aorte ascendante et arthrose précoce : un nouveau syndrome du spectre du Marfan - Catherine BOILEAU

P052 - Syndrome de Setleis : à propos d'une nouvelle observation et revue de la littérature.

P053 - Nouvelle mutation du gène EDNRB associée au syndrome de Waardenburg type IV.

P054 - Forme rare d'amélogénèse imparfaite et hyperplasie gingivale : à propos de deux nouveaux cas.

P055 - Analyse moléculaire de 263 patients avec albinisme oculocutané. - Fanny MORICE-PICARD

P056 - Nouveau syndrome caractérisé par une amélogénèse imparfaite et une dysmorphie faciale chez une famille marocaine consanguine.

P057 - Mutation p.E138K du gène LMNA chez une patiente présentant une progéria atypique.

P058 - A novel type of congenital hypochromic anemia associated with a nonsense mutation in the STEAP3/TSAP6 gene. - bernard Grandchamp

P059 - Analyse Moléculaire du gène OA1 chez des patients avec albinisme oculaire. - Fanny MORICE-PICARD

P060 - Mutation non-codante et conséquence structurale dans la chondrodysplasie métaphysaire - Imane Cherkaoui Jaouad

P061 - L'hyperthermie d'exercice et l'hyperthermie peranesthésique ont elles un déterminant moléculaire commun ? - Joel Lunardi

P062 - Mosaïcismes somatiques du gène ALAS2 responsables de protoporphyrie érythropoïétique dominante liée à l'X - Sarah Ducamp

P063 - SDCCAG8, un nouveau gène impliqué dans le syndrome de Bardet-Biedl enrichissant le spectre phénotypique des ciliopathies - Corinne Stoetzel

P064 - Une nouvelle mutation dans le gène TFAP2A responsable du syndrome branchio-oculo-facial (BOFS) - Corinne Stoetzel

P065 - Un nouveau transcrit alternatif du gène codant le récepteur au TNFα, TNFR1-d2 : base moléculaire de la régulation de son expression et rôle chez les patients atteints du syndrome périodique associé au récepteur 1 du TNF (TRAPS) - Isabelle Touitou

P066 - Screening d'ADAMTS10, FBN1 et ADAMTS17 dans une cohorte de 17 patients présentant le syndrome de Weill-Marchesani - Carine Le Goff

P067 - Etude clinique et moléculaire de patients atteints de cylindromatose - AMEL TSALAMLAL

P068 - Ankylose progressive des articulations dans l'enfance : penser aux erreurs innées du métabolisme - ELISE BRISCHOUX-BOUCHER

P069 - étude de gène AR chez trois patientes Tunisiennes atteintes de CAIS - Bochra Ben Rhouma

P070 - ABCB4 deletions in familial low phospholipid-associated, and oral contraceptives-induced cholestasis - Eric Pasmant

P071 - La mutation récurrente c.1878delA chez les patients marocains atteints de syndrome de Dyggve-Melchior-Clausen. - MARIA MANSOURI

P072 - Forme autosomique récessive de la dysplasie dentinaire type I chez une famille marocaine consanguine - Imane Cherkaoui Jaouad

P073 - Analyse angiographique et génétique chez 26 patients présentant des malformations artérioveineuses cérébrales à l'âge pédiatrique - Florent SOUBRIER

P074 - Identification d'une large délétion du gène KAL1 chez deux frères présentant une surdité neurosensorielle - sandrine marlin

P075 - EURO-WABB: Une Base de données Européenne des maladies rares pour les syndromes de Wolfram, Alström, Bardet-Biedl et autres formes de diabètes rares - Annabelle Chaussenot

P076 - Application de la technique MLPA aux gènes FBN1 et TGBFR2 dans le syndrome de Marfan et les pathologies associées : résultats d'une grande étude française. - Nadine HANNA

P077 - Diabète Mitochondrial: Recherche de la mutation m.3243A>G et la mutation m.14709T>C chez deux familles Tunisiennes.

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme - de P001 à P256

P078 - La maladie de Huntington en Tunisie : confirmation diagnostique et analyse de modificateurs géniques.
Huntington's disease in Tunisia: diagnostic confirmation and analysis of genetic modifiers - Marwa Chourabi

P079 - Recherche de remaniements de grande taille du gène POLG par QMPSF chez des patients présentant une instabilité de l'ADN mitochondrial - Véronique Paquis-Flucklinger

P080 - Un nouveau cas de déficit en protéine SCPx chez une adulte présentant une ataxie cérébelleuse, une leucoencéphalopathie et une neuropathie sensitive - David Cheillan

P081 - Syndrome de Goldberg-Shprintzen : nouvelles mutations du gène KIAA1279 et conséquences fonctionnelles - Loïc Drévillon

P082 - Mutation intronique profonde dans le syndrome de Usher de type 2 :
implications pour le diagnostic et perspectives thérapeutiques - Christel Vaché

P083 - Syndrome de Meier-Gorlin : étude clinique et moléculaire chez 2 patients et revue de la littérature.(Meier-Gorlin syndrom : clinical and molecular research of 2 patients and literature review) - CAROLE CORSINI

P084 - Deux nouvelles délétions de l'ADN mitochondrial (9.768 et 7.253 kb) dans les leucocytes, la muqueuse buccale et les cheveux d'une patiente atteinte d'un syndrome de Kearns-Sayre - Emna Mkaouar-Rebai

P085 - DPY19L2, gène majeur de la globozoospermie - Stéphane Viville

P086 - Une nouvelle mutation de SPATA16 responsable de globozoospermie - Stéphane Viville

P087 - Epidémiologie moléculaire de l'hémochromatose de type 4 ou « ferroportin disease » - caractérisation clinique, thérapeutique et fonctionnelle de nouveaux variants - Gérald Le Gac

P088 - Manifestations rénales dans les cytopathies mitochondriales: à propos d'une série de 45 patients - marlène rio

P089 - NEWS PKD1 GENE MUTATIONS IN BENINESE FAMILIES WITH AUTOSOMAL DOMINANT POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE - Anatole LALEYE

P090 - Proteomic identification of calumenin as a G551D - CFTR associated protein - Pascal Trouvé

P091 - Région 14q12, gène FOXG1 et encéphalopathies apparentées au syndrome de Rett: A propos de 7 nouveaux cas et cartographie physique d'un élément régulateur de FOXG1 - LILA ALLOU

P092 - Etude phénotypique du syndrome de Simpson-Golabi-Behmel sur une série de 39 patients. - Edouard Cottereau

P093 - Prévalence élevée des laminopathies chez les patients atteints de syndrome métabolique - Catherine BADENS

P094 - Identification d'un transcript délété additionnel dans une cohorte de patients atteints de syndromes progéroides et porteurs de mutations du gène LMNA - Annachiara De Sandre-Giovannoli

P095 - Les nouveaux critères de Ghent: Qu'ont-ils changés dans l'évaluation du diagnostic de syndrome de Marfan? - Laurence Faivre

P096 - Acidémie isovalérique : caractérisation génétique et étude du métabolisme de la leucine dans les fibroblastes. - Cécile Acquaviva

P097 - Spectre de mutations dans une cohorte unique de patients avec syndrome de Gitelman - Rosa Vargas-Poussou

P098 - Un cas de syndrome de EAST/Sesame avec tubulopathie comme manifestation inaugurale - Rosa Vargas-Poussou

P099 - Mosaïcisme somatique chez une femme porteuse d'une grande délétion du gène ATP7A - Marie-Pierre Moizard

P100 - Identification d'une duplication dans le gène Glypican-3 (GPC3) chez un patient porteur d'un syndrome de Simpson-Golabi-Behmel. - Marie-Pierre Moizard

P101 - Un nouveau sous type de CDG I affectant la synthèse du dolichol : DHDDS-CDG - Sandrine Vuillaumier-Barrot

P102 - Identification de nouveaux gènes dans les formes autosomales récessives de la maladie de Parkinson par cartographie d'homozygotie sur des familles consanguines - Aurélie Honoré

P103 - Analyse moléculaire de 2 nouveaux gènes VPS35 et eIF4G1 dans des familles européennes de forme autosomique dominante atteintes de la maladie de Parkinson - Christel Condroyer

P104 - Malformation Chiari type 1 dans le syndrome de Noonan - YLINE CAPRI

P105 - Recherche de gènes responsables de nouvelles formes d'ataxies congénitales non progressives par séquençage d'exome dans des familles consanguines - V Delague

P106 - Les mutations d'INF2 sont une cause majeure de podocytopathie autosomique dominante - Olivia Boyer

P107 - Maladies de « Huntington like » non liées à des mutations du gène HTT.
Huntington disease like phenotypes not linked to CAG repeat expansions in the HTT gene - Perrine Charles

P108 - Etudes génétiques des neuropathies héréditaires sensitives humaines grâce au modèle canin.
Genetic analysis of human hereditary sensory neuropathies using the canine model. - Catherine ANDRE

P109 - Décompensation aigue et décès inattendu chez une patiente atteinte de CDG I g

P110 - Xeroderma Pigmentosum de type C et melanomas multiples chez un jeune patient - Cecile Ged

P111 - Une forme variante de syndrome de Sjögren-Larsson - Catherine SARRET

P112 - "PHA2-D" is a regulator of ion transport in the distal nephron and blood pressure - Hélène LOUIS dit PICARD

P113 - Risk Factors for Malignant Ventricular Arrhythmias in Lamin A/C Mutation Carriers: a European Cohort Study - Philippe Charron

P114 - Forme rare d'une rétinite pigmentaire associée à une amélogénèse imparfaite: A propos de deux familles Marocaines - Imane Cherkaoui Jaouad

P115 - Étude génotypique de 90 malades atteints de thrombasthénie de Glanzmann - Mathieu FIORE

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme - de P001 à P256

P116 - Etude génétique d'une patiente Tunisienne atteinte du syndrome de Pearson : présence de la déletion mitochondriale commune 4.977 kb associée à deux nouvelles déletions de l'ADNmt - Imen BEN Ayed

P117 - Spectre des mutations intragéniques d'EHMT1 dans le syndrome de Kleefstra.
Intragenic EHMT1 mutations spectrum in patients with Kleefstra Syndrome. - Séverine Drunat

P118 - Diagnostic génétique des diabètes MODY : analyse de 1516 cas index confirmés au niveau moléculaire - Christine Bellanné-Chantelot

P119 - Identification de gènes de retard mental et Hybridation génomique Comparative sur puces à ADN (CGH)
Missirian Chantal, Popovici Cornel, Sigaudy sabine, Busa Tiffanny, Philip Nicole, Moncla Anne - anne Moncla

P120 - Syndrome d'Aarskog-Scott : premiers cas de duplication du gène FGD1 (Aarskog-Scott syndrome in two patients: Report of the first duplication in the FGD1 gene). - Isabelle MAYSTADT

P121 - Compelling evidence for array-CGH usefulness in the diagnostic strategy of dystrophinopathies - Aliya Ishmukhametova

P122 - Détection de grands réarrangements du gène DMD : limites technologiques de certains outils pour le diagnostic et le conseil génétique - Marie-Claire Vincent

P123 - Nouvelle mutation dans SLC9A6 chez un patient atteint d'un syndrome de Christianson avec une dégénérescence cérébelleuse - Cyril Mignot

P124 - Hétérotopies nodulaires périventriculaires et accident vasculaire cérébral sylvien chez une fille porteuse d'une délétion partielle du gène FLNA - Cyril Mignot

P125 - Nouvel éclairage sur les hypoplasies pontocérébelleuses : apports des nouveaux gènes dans l'arbre décisionnel de diagnostic - LYDIE BURGLEN

P126 - Association de neurofibromatose type 1 et syndrome de Noonan : À propos d'un cas et revue de littérature
Association of neurofibromatisis type 1 and Noonan Syndrome : case report and review of littérature - Nadia Serbati

P127 - A novel report of 1592C>T mutation of CLCN1 gene occurring in an autosomal recessive form of myotonia congenital in a Tunisian family - Nouha Abdelmoula Bouayed

P128 - Utilité du dosage plasmatique de la progranuline pour le diagnostic moléculaire des démences lobaires fronto-temporales. - F Clot

P129 - Etude du gène CFTR pour 13 familles moldaves dans le cadre d'une mission de « Pédiatre du Monde »

P130 - Mutations par substitution de nucleotides consécutifs : un nouveau type de variation génomique responsable de pathologie génétique humaine - Jian-Min Chen

P131 - Criblage moléculaire d'une cohorte de 65 patients atteints de spasmes infantiles - G LESCA

P132 - Identification de mutations du Gène GATA3 chez 3 patients atteints du syndrome HDR et Revue de la littérature. - Malek Louha

P133 - Etude du gène SLC29A3 de l'histiocytose de Rosai-Dorfman à la surdité : l'expérience française. - Laurence Jonard

P134 - Génotypage par HRM et séquençage de 50 SNPs pour étude de gènes modificateurs des atteintes hépatiques dans la maladie de Rendu-Osler - Sylvain LEFEBVRE

P135 - Aide à l'interprétation des variants de signification clinique inconnue : l'exemple d'UMD-CFTR-France – banque de données locus spécifique - Corinne BAREIL

P136 - A new mutation of FOXP3 in IPEX syndrome's Tunisian family - Nouha Bouayed Abdelmoula

P137 - Mutations de CDMP1 : brachydactylie de type C / Dysplasie en ailes d'anges / Syndrome de Grebe et symphalangisme proximal : expérience française à partir de 20 familles et corrélation génotype-phénotype. - Sylvie MANOUVRIER-HANU

P138 - Les duplications Xq28 dans l'hémophilie : un problème pour le conseil génétique - C Costa

P139 - LGMD2L in French population: new gene mutations and new phenotypes. - france leturcq

P140 - La mutation E1507K du gène ABCC8 (SUR1) est associée à une variabilité des phénotypes allant de l'hypoglycémie néonatale au diabète chez l'adulte - Cécile Saint-Martin

P141 - Une duplication isolée de la région régulatrice du gène SHOX responsable d'un syndrome de Leri-Weill

P142 - Puces CGH "à façon" : un nouvel outil diagnostique pour la détection de grands réarrangements dans des gènes variés. - Mireille COSSEE

P143 - Mise en place du diagnostic pré et postnatal du syndrome de Cockayne à Strasbourg : vers une meilleure reconnaissance de la maladie. - Nadège CALMELS

P144 - Localisation de deux régions contrôlant l'expression du gène KAL1 par l'étude de délétions présentes chez des patients atteints du syndrome de Kallmann - Catherine DODE

P145 - Enfin un test simple et rapide pour la détection des mutations du gène CFTR spécifiques d'origines géographiques - Emmanuelle Girodon

P146 - Spectre de mutation dans le gène DNM2 et corrélation génotype/phénotype pour les myopathies centronucléaires dominantes. - Valérie BIANCALANA

P147 - Analyse du gène POLG : chez qui ? pour quelles indications ? - Claude Jardel

P148 - Evaluation du caractère délétère de mutations du gène codant la ferroportine par études fonctionnelles in vitro. - Véronique DAVID

P149 - A propos de 4 cas porteurs de la mutation m.3280A>G dans le gène MT-TL1 - Claude Jardel

P150 - Résultats de 10 années d'évaluations développementales et comportementales de 44 enfants avec Syndrome de Rubinstein-Taybi.
Results of 10 years of developmental and behavioral evaluations of 44 children with Rubinstein-Taybi Syndrome. - EMMANUJELLE TAUPIAC

P151 - Lepréchaunisme , phénotype clinique et aspects thérapeutiques à propos de 2 cas
Phenotypical presentation and therapy in two cases with leprechaunism - Dominique Martin-Coignard

P152 - Differentiation of human macrophages in vitro with enhanced antimycobacterial activity - Guillaume VOGT Guillaume VOGT

P153 - Hyperkératose palmo-plantaire, retard mental et spasticité chez deux demi-frères maternels : une nouvelle forme de paraplégie spastique liée à l'X ? - Bertrand Isidor

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme - de P001 à P256

P154 - Blépharophimosis, retard mental, malformations congénitales chez deux frères: une nouvelle forme syndromique de blépharophimosis ? - Bertrand Isidor

P155 - Identification d'une délétion du dernier exon du gène RHD (exon 10) : implication pour le génotypage RHD fœtal non-invasif - Yann Fichou

P156 - Classification de variants de signification clinique inconnue par évaluation de leur impact sur l'épissage des ARN pré-messagers : exemple du gène CFTR. - Caroline Raynal

P157 - Impact des motifs cis-régulateurs des régions non-codantes sur l'expression du gène CFTR - Magali Taulan

P158 - WNT10A est, après EDA, le deuxième gène le plus fréquemment impliqué dans les dysplasies ectodermiques anhidrotiques et hypohidrotiques. - Nicolas Chassaing

P159 - Spinal Muscular Atrophy Carrier Frequency and Estimated Prevalence of the Disease in Moroccan Newborns. - Jaber Lyahyai

P160 - Description d'un cas familial exceptionnel de fibroélastose pleuro-parenchymateuse idiopathique et identification de deux loci candidats par cartographie d'homozygotie pangénomique - Eric Bieth

P161 - Interprétation de variants introniques ultra rares en situation de diagnostic prénatal: deux exemples contrastés dans le gène MTM1. - Valérie BIANCALANA

P162 - Aide à l'interprétation des mutations faux sens du gène ALK1 - S GIRAUD

P163 - Réarrangements génomiques dans les gènes PKD1 et PKD2 :
Approche méthodologique et fréquence - Marie Pierre AUDREZET

P164 - Mise en évidence de facteurs génétiques d'évolution vers l'insuffisance rénale terminale dans la polykystose rénale autosomique dominante. - Emilie CORNEC-LE GALL

P165 - Mise au point d'outils novateurs pour l'identification de mutations pathogènes : le cas des dysferlinopathies - Virginie Kergourlay

P166 - Diagnostic moléculaire du syndrome d'Alport par séquençage haut-débit - Vincent Morinière

P167 - Maladie de Krabbe en France : 36 ans de diagnostic (1975-2011) - Roseline Froissart

P168 - Présentation d'une étude multicentrique phénotypique, génotypique et physiopathologique des encéphalopathies épileptiques précoces. - mathieu milh

P169 - The Universal Mutation Database for dysferlin - K Martin

P170 - Syndrome Kabuki et anomalies cardiaques (à propos d'un cas)

P171 - Les mutations du gène SH3TC2 (CMT4C) sont fréquentes chez les cas isolés avec un Charcot-Marie-Tooth démyélinisant - Eric LEGUERN

P172 - Nouvelle mutation du gène POLR3A : continuum clinique de trois formes de leucodystrophies - Imen DORBOZ

P173 - Bilan et résultats récents de la nouvelle approche diagnostique de la dystrophie facio-scapulo-humérale par la technique du peignage moléculaire.
Molecular combing-based diagnosis of facio-scapulo-humeral dystrophy: update and new findings. - Karine Nguyen

P174 - Place des CNV dans l'étiologie des retards mentaux liés au chromosome X - Nicole Philip

P175 - Un défaut dans la voie de synthèse des gangliosides identifié par séquençage d'exome et révélé par un déficit de la chaîne respiratoire - Konstantina Fragaki

P176 - Identification de gènes de retard mental grâce à la CGH array - Anne Moncla

P177 - Les complications cardiaques sont un facteur majeur de comorbidité et mortalité dans les patients porteurs de la mutation 'MELAS' MT-TL1 3243A>G - Pascal Laforêt

P178 - Forme neurologique de maladie de Wilson chez un patient homozygote pour une très longue délétion (34380 pb) de l'ATP7B emportant l'exon 2 - Philippe Chappuis

P179 - Premières mutations faux sens de ZEB2 :
phénotype modéré de syndrome de Mowat-Wilson - Jamal Ghoumid

P180 - Réévaluation clinique du syndrome tricho-hépato-enterique - Alexandre Fabre

P181 - Genetic and Functional Analyses of SHANK2 Mutations Suggest a Multiple Hit Model of Autism Spectrum Disorders - Claire Leblond

P182 - Etude analyse d'association génétique de patients suédois atteints de troubles du spectre autistique ou de troubles de déficit d'attention avec hyperactivité - Guillaume HUGUET

P183 - Mutation de la connexine 43 dans un tableau familial atypique de syndrome tricho-dento-osseux ou de dysplasie oculo-dento-digital. - Bruno LEHEUP

P184 - Identification d'une nouvelle mutation du gène SLC2A10 associée au syndrome de tortuosité artérielle - Lisa Golmard

P185 - Implication de ndpk-b dans la mucoviscidose par interaction directe avec le domaine nbd1 de la protéine cftr - Mathieu Kerbiriou

P186 - Maladies mitochondriales de l'adulte : spectre clinique et moléculaire des patients suivis dans le centre de pathologie neuromusculaire Paris-Est. - Pascal Laforêt

P187 - Identification de deux nouveaux gènes de paraplégies spastiques impliqués dans le métabolisme lipidique Identification of two novel genes in spastic paraplegia involved in lipid metabolism - Christelle TESSON

P188 - Les mutations du gène RUNX1T1, acteur de la répression chromatinienne, sont associées à une déficience intellectuelle autosomique dominante modérée à légère - Philippe Jonveaux

P189 - Mucoviscidose en Tunisie : spectre de mutations et corrélation génotype-phénotype
Cystic fibrosis in Tunisia: spectrum of mutations and genotype-phenotype correlation - sondess HADJ FREDJ

P190 - Association de deux mutations mitochondriales (m.3395A>G et m.4316A>G) chez une patiente tunisienne atteinte de cardiomyopathie hypertrophique et de surdité - Imen Chamkha

P191 - Prédiction in silico de mutations exoniques induisant un épissage alternatif du gène CFTR : implication pour le diagnostic - Pascale Fanen

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme - de P001 à P256

P192 - Mutations du FGFR1 : une nouvelle cause de malformation « mains / pieds fendus » associée à des anomalies complexes du développement dont le syndrome de Kallmann. - Nicolas de Roux

P193 - Une observation exceptionnelle de syndrome de Treacher Collins autosomique récessif : bases moléculaires et conseil génétique - Elise Schaefer

P194 - Confirmation de l'implication du gène SETBP1 dans le syndrome de Schinzel-Giedion chez deux enfants et description de leur évolution clinique sur 10 ans. - Hélène Dollfus

P195 - Surdité congénitale avec agénésie de l'oreille interne, microtie et microdontie associée à une nouvelle mutation homozygote dans le gène FGF3. - Hélène Dollfus

P196 - Étude de corrélation phénotype-génotype du déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase en Tunisie. - Chaima Abedelhafidh Sahli

P197 - Le syndrome de Goldberg-Shprintzen: caractérisation clinique et moléculaire d'un nouveau cas et confirmation de l'implication du gène KIAA1279 - Cornel Popovici

P198 - Aspects cliniques et génétiques des amyotrophies spinales observées dans l`Est Algérien
spinal muscular atrophy clinical and genetic aspects observed in the east of Algeria - Karima Sifi

P199 - Dysplasie ectodermique anhidrotique avec déficit immunitaire et ostéopétrose traitée avec succès par greffe de cellules souches hématopoïétiques - Estelle Colin

P200 - Régression testiculaire et anomalies cérébrales : un nouveau syndrome ?
Testicular regression/mental retardation : a new syndrome ? - Massimiliano Rossi

P201 - Ataxie cérébelleuse non progressive avec myoclonies due à des mutations du gène ADCK3 (ARCA2). - Cyril Mignot

P202 - Déficit multiple en acyl-coa déshydrogénase (madd) : une étude génétique, clinique et biochimique de 10 patients français - Anthony Béhin

P203 - Détermination d'un ratio des hormones thyroïdiennes T3/T4 comme marqueur prédictif de mutation du gène MCT8 - Renaud Touraine

P204 - Le syndrome de Grebe : à propos d'une observation avec une mâcrocranie et une atteinte cérébrale - Faouzi Maazoul

P205 - Myopathies secondaires à des mutations du gène de l'anoctamine 5 (ano5) : caractéristiques phénotypiques - Anthony Béhin

P206 - Hyperlipoprotéinémie familiale type IIa (Avec mutation G622C à l'état homozygote) révélée par une xanthomatose cutanée
familial Hyperlipoproteinemia type IIa (With homozygous G622C mutation) revealed by cutaneous xanthomatosis - Nadia Serbati

P207 - Syndrome de Marfan dans une famille marocaine: Expressivité variable et conseil génétiqe

P208 - Etude clinique et moléculaire des amélogenèses imparfaites - A BLOCH-ZUPAN

P209 - CAMTA1 : un nouveau gène dominant d'ataxie congénitale et de déficience intellectuelle légère - Christel Thauvin-Robinet

P210 - Implication d'un gène du Spliceosome dans un cas de Déficience Mentale Sévère ? - Olivier Perche

P211 - Syndrome FG : le locus FGS2 revisité. - Olivier Perche

P212 - CAPN3 mRNA processing alteration caused by splicing mutation associated with novel genomic rearrangement of Alu elements - Ikhlass HADJ SALEM

P213 - Xeroderma pigmentosum de type C : à propos de 31 cas - Smail Hadj-Rabia

P214 - Mutations in LAMA2 and CAPN3 genes associated with genetic and phenotypic heterogeneities within a single consanguineous family involving both congenital and progressive muscular dystrophies - Ikhlass HADJ SALEM

P215 - Développement d'une atteinte hépatique néonatale sévère chez un patient atteint de syndrome de Simpson-Golabi-Behmel - benedicte demeer

P216 - Etude génétique du complexe canalaire calcique cardiaque Cav1.2 dans une population de patients atteints de diverses arythmies.Genetic study of cardiac calcium channel complex Cav1.2 in patients with cardiac arrhythmias. - PASCALE GUICHENEY

P217 - Une délétion atypique de la région du syndrome de Williams-Beuren comprenant les gènes ELN et LIMK1 - benedicte Demeer

P218 - Stratégie d'exploration d'une déficience intellectuelle inexpliquée - Delphine HERON

P219 - Spectre phénotypique lié aux mutations du gène PLA2G6 : de la dystrophie neuroaxonale infantile DNAI aux formes tardives.
Phenotypic spectrum associated with mutations in the PLA2G6 gene: from infantile neuroaxonal dystrophy to late onset type. - Alexandra Afenjar

P220 - Atténuation du phénotype de la dysplasie ectodermique anhidrotique liée à l'X - Smail Hadj-Rabia

P221 - Variants non classés du gène CFTR :
Combinaison de 3 approches pour l'évaluation de leur impact sur l'épissage. - Marie-Pierre Audrezet

P222 - Evolution satisfaisante et réponse immunologique atypique d'un enfant de 3 ans atteint d'une maladie de Pompe ayant un statut crim négatif. - Alice Masurel-Paulet

P223 - Joubert syndrome with ocular defect in a Tunisian baby - Nouha Bouayed Abdelmoula

P224 - La dysplasie spondyloépimétaphysaire de type strudwick à propos d'un cas
Spondylometepiphyseal dysplasia, strudwick type: a case report - Imen Chelly

P225 - Syndrome de Fraser : Mise en place et premiers résultats du diagnostic moléculaire au CHU de Clermont-Ferrand - Caroline Janel

P226 - Adaptor–related protein complex 4, beta 1 subunit: a new player in autosomal recessive mental retardation syndrome - Annick Raas-Rothschild

P227 - Deux remaniements déséquilibrés différents du chromosome X: der(X) ou del(X) d'une même t(X;Y)(p22;q11) familiale. - Eleonore Blondeel

P228 - Maladie d'Alexander: données cliniques et histoire de la maladie à partir d'une série de 42 malades porteurs d'une mutation dans le gène GFAP - Cyril Mignot

P229 - Complications obstétricales au cours du syndrome d'ehlers-danlos vasculaire : étude rétrospective de 72 grossesses. (Vascular ehlers-danlos syndrome obstetrical complications : a retrospective study on 72 pregnancies.) - Michael Frank

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme - de P001 à P256

P230 - La dysplasie oculo-dento digitale : étude clinique d'une famille Tunisienne

P231 - La mutation récurrente Opa1delTTAG est responsable d'une nouvelle maladie poly-neurodégénérative causée par un déficit tissu et métabolisme-spécifique du complexe IV et une instabilité des supercomplexes chez la souris. - Emmanuelle sarzi

P232 - Gangliosidoses à GM1 - Etude d'une cohorte de 17 patients dont l'analyse moléculaire a été réalisée au CHU de Rouen depuis 2007 - Stephanie Torre

P233 - Corrélation phénotype-génotype dans le syndrome d'ehlers-danlos vasculaire. (Phenotype-genotype correlations in vascular ehlers-danlos syndrome.) - Michael Frank

P234 - Présentation neurologique et digestive d'une mutation de filamine A : études clinique, moléculaire et fonctionnelle - Cyril Goizet

P235 - Observation familiale du syndrome EEM à transmission récessive liée à l'X - nisrine aboussair

P236 - Pertinence de différents modèles cellulaire pour démontrer le caractère délétère de mutations du gène codant le transporteur des hormones thyroïdiennes monocarboxylate 8 (MCT8) et l'existence d'une corrélation génotype-phénotype. - Catherine VAURS-BARRIERE

P237 - L'épilepsie dans le syndrome d'angelman: à propos de 9 cas tunisiens - RYM Meddeb

P238 - Results of the genetic screening of new candidate genes in Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy - Estelle Gandjbakhch

P239 - ROBUST MULTIPLEX TEST FOR PROTHROMBIN G20210A MUTATION,
FVL G1691A MUTATION AND MTHFR C677T POLYMORPHISM. - khalil hamzi

P240 - PCR-RFLP, SEQUENCING AND QUANTIFICATION IN MOLECULAR DIAGNOSIS OF SPINAL MUSCULAR ATROPHY (SMA): LIMITS AND ADVANTAGES. - khalil Hamzi

P241 - Nouvelle mutation c.1978C>T du gène TCOF1 à l'origine d'une observation familiale du syndrome de Franceschetti-Klein - NISRINE ABOUSSAIR

P242 - Sickle cell disease with recurrent Stroke in a Moroccan family. - afaf ben itto

P243 - Identification d'une nouvelle entité clinique allélique à XP-A - Sonia Abdelhak

P244 - Large-Scale Meta-analysis of Genetic Studies in Ischemic Stroke: Five Genes Involving 152,797 Individuals. - khalil hamzi

P245 - LES MUTATIONS DYNAMIQUES: PHENEOMENE D'ANTICIPATION ET APPORT DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE - khalil hamzi

P246 - ASPECTS GENETIQUE DES EPILEPSIES - afaf ben itto

P247 - Clinical, molecular and functional characterization of ARSACS. - Isabelle COUPRY

P248 - Les thrombocytopénies causées par les mutations de filamine A peuvent s'exprimer de façon isolée - Cyril Goizet

P249 - Les mutations des gènes codant pour les protéines du transport intraflagellaire (IFT) membres du complexe A sont associées à la néphronophtise - Sophie Saunier

P250 - Une cause rare d'anémie fœtale : l'anémie de Blackfan Diamond - Renaud Touraine

P251 - Réévaluation de la stratégie du diagnostic moléculaire du syndrome de Rubinstein-Taybi : à propos de 14 nouvelles mutations dans le gène EP300 - Patricia Fergelot

P252 - Des mutations faux-sens dans le gène KIF1A responsables de la paraplégie spastique récessive autosomique SPG30 : phénotypes distincts selon la nature des mutations. - Agnès Rastetter

P253 - Amélioration clinique d'un cas de Xanthomatose Cérébro Tendineuse après 18 mois de traitement à l'âge adulte par l'acide chénodesoxycholique - Renaud Touraine

P254 - From DGGE to NGS: (R)evolution of genetic testing strategy in GEFS+/Dravet syndrome patients. - Zuzana Gencik-Guillier

P255 - Mutations germinales du gène GNAS chez 309 patients cas index présentant une pseudohypoparathyroïdie de type 1a/1c (PHP1a/PHP1c) : corrélation génotype/phénotype - nicolas Richard

P256 - A new deletion ablating NESP55 causes loss of maternal imprint of A/B GNAS and autosomal dominant pseudohypoparathyroidism type Ib - nicolas Richard

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques- de P257 à P361

P257 - Corrélation phénotype-génotype chez 14 patients porteurs d'une délétion de la région chromosomique 1q24q25 - Véronique Haddad

P258 - SYNDROME DE WOLF HIRSCHHORN AVEC DUPLICATION ADJACENT DÉTECTÉE PAR CGH A PROPOS D UN CAS. - Belaid Ait Abdelkader

P259 - SYNDROME DE MC DERMIDE PHELAN A PROPOS D UN CAS - Belaid ait abdelkader

P260 - Le syndrome de Mc dermid phelan est une microdeletion - a remplir fds

P261 - Identification d'un point chaud de recombinaison homologue non allélique centré sur une séquence AluSq au locus DPY19L2. - Pierre F. Ray

P262 - Délétion Xp22.2p22.33 homogène chez un foetus de sexe féminin : difficultés du conseil génétique en période prénatale - Valérie KREMER

P263 - Etude par cytogénétique moléculaire d'une patiente avec une leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous corticaux. - inesse ben abdallah bouhjar

P264 - Caractérisation d'un der(8)t(8;16)(p23.2;q23.1)pat chez un patient présentant des caractéristiques phénotypiques du syndrome de Kabuki. - HOUDA KARMOUS-BENAILLY

P265 - La microdélétion 12p13.33 comprenant le gène ELKS/ERC1 est un locus associé au retard de langage avec apraxie verbale, avec ou sans déficience intellectuelle. - Julien Thevenon

P266 - Intérêt de la région 20q13.33 dans la susceptibilité aux troubles du spectre autistique - Anne-Laure Mosca-Boidron

P267 - Un cas de délétion 22q11 associé à une polymicrogyrie - Laurence PERRIN

P268 - Génétique des troubles désintégratifs de l'enfance (TED): etude par cytogénétique Classique et par CGH-array d'une cohorte de patients - Wiem Fathallah

P269 - Déséquilibres génomiques chez des patients présentant une anomalie du développement oculaire non isolée - Andrée Delahaye

P270 - Importance de la caractérisation des points de cassure des inversions péricentriques du chromosome 10 - Agathe PAUBEL

P271 - Caractérisation d'un dérivé du chromosome 9 chez une patiente présentant une réversion sexuelle associée à un retard de développement et des troubles du comportement de type autistique. - Letizia Crouzet-Ozenda

P272 - Les monosomies 1q terminales :
Analyse moléculaire par CGH-array et recherche de corrélations génotype / phénotype. - Agathe PAUBEL

P273 - Monosomie 22qter secondaire à une inversion péricentrique paternelle du chromosome 22 : un piège diagnostic - Agathe PAUBEL

P274 - Syndrome de Potocki-Lupski :
Première observation d'un cas hérité - Agathe PAUBEL

P275 - La délétion 8q13 est-elle seule en cause dans la dysplasie mésomélique avec synostoses acrales ? - Marie-Pierre CORDIER

P276 - Rhombencéphalosynapsis : étude par CGH-array d'une cohorte de 58 patients
Array-CGH analysis suggests genetic heterogeneity in Rhombencephalosynapsis. - Florence DEMURGER

P277 - Mise en évidence d'une duplication polymorphe de 13.6Mb sur le bras court du chromosome 20 - Audrey LABALME

P278 - Etude par ACPA enrichie au niveau du chromosome X de 21 patients présentant un retard mental lié à l'X : Intérêt d'une puce pangénomique. - Audrey LABALME

P279 - Etude de 5 patients présentant l'association hémophilie B et déficience intellectuelle en Analyse Chromosomique sur Puce à ADN. - Damien SANLAVILLE

P280 - Mise en évidence d'une région critique minimale impliquée dans le syndrome de la délétion 4q21. - Manal Dayem-Quere

P281 - Tétrasomie 9p en mosaïque : un phénotype reconnaissable - ELISE BRISCHOUX-BOUCHER

P282 - CNVs et retard mental : limites,lien de causalité et un exemple à l'étude
CNVs and mental retardation: limits, causality and an example of study. - Hela BEN KHELIFA

P283 - Signes cliniques et analyse cytogénétique d'un Chromosome 18 en anneau: A propos d'un nouveau cas - OLFA KILANI

P284 - Caractérisation d'une nouvelle délétion interstitielle en 6q21-q22.1 chez une patiente présentant une microcéphalie, une trigonocéphalie, une hypotonie et une dysmorphie faciale. - Stéphanie Moortgat

P285 - Dyspraxie verbale sans déficience intellectuelle chez une patiente porteuse d'une délétion 5p - Gaetan Lesca

P287 - Deletion HNF1B et troubles neurologiques: une association non fortuite - Fanny Laffargue

P288 - Monosomie 7q partielle en mosaïque, chez un homme fertile au phénotype normal.
Partial monosomy 7q in mosaïcism, in a fertil man with normal phenotype. - Aline RECEVEUR

P289 - Diagnostic des disomies uniparentales : intérêt des puces SNP par rapport à la CGH array - Boris Keren

P290 - Délétion intragénique du gène de la Neurexine 1 (NRXN1) et troubles autistiques, à propos d'un cas .
Intragenic deletion of Neurexin 1 (NRXN1) and autism spectrum disorder : a case report. - Rodolphe Dard

P291 - Mise en évidence par hybridation génomique comparative d'un nouveau réarrangement complexe du chromosome X chez une enfant atteinte de protéinose alvéolaire pulmonaire : une inv dup del Xp associée à une duplication de Xq27.3-qter. - Julie AUGER

P292 - Syndrome de Goldenhar avec atrésie de l'œsophage et délétion 17q21.31 : une association fortuite ? - Muriel Holder-Espinasse

P293 - Dissection des syndromes marfanoides avec retard mental à partir d'une cohorte nationale de 100 patients - Laurence Faivre

P294 - Le syndrome microdélétionnel 1q43q44 : une nouvelle forme de microcéphalie primitive ? - CELINE POIRSIER

P295 - Une nouvelle cause de dilatation aortique isolée : triplication du gène ELN. - Muriel Holder-Espinasse

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques- de P257 à P361

P296 - Délétion 3p14.1p13: nouveau syndrome microdélétionnel
associé aux contractures distales des articulations - Julien Thevenon

P297 - Autism multiplex family with 16p11.2p12.2 microduplication syndrome in monozygotic twins and distal 16p11.2 deletion in their brother - Anne-Claude Tabet

P298 - Caractérisation clinique et moléculaire de 2 duplications 4pter incluant la région critique du syndrome de Wolf-Hirschhorn : A propos de 3 cas - Anne DESTREE

P299 - Cas d'une délétion de novo de 9Mb au sein d'une inversion paracentrique en 2q héritée responsable d'un retard du développement sévère et de malformations palpébrales - Lionel Van Maldergem

P300 - Malségrégation paternelle d'une translocation t(11;13)(q25;q14) chez deux patients présentant une déficience intellectuelle
Paternal malsegregation of a translocation t(11;13)(q25;q14) in two patients with intellectual disability - Corinne Metay

P301 - Mouvements anormaux et microdélétion 22q11: association fortuite ou causalité ?
Movement disorder and deletion 22q11, incidental association ? - Perrine Charles

P302 - Syndrome d'Angelman et susceptibilité aux traitements neuroleptiques
Neuroleptic susceptibility in Angelman syndrome. - Perrine Charles

P303 - Un marqueur chromosomique surnuméraire peut en cacher un autre ! - Grégory EGEA

P304 - Duplication du gène TUSC3 associée au retard mental à transmission autosomique récessive - Céline Pebrel-Richard

P305 - Interruption du gène COL2A1 dans une famille présentant un syndrome de Stickler associé à une translocation apparemment équilibrée t(12;15). - CELINE DUPONT

P306 - Délétion 17p11.2 respectant RAI1 chez un enfant présentant un syndrome Smith Magenis-like - Mélanie JIMENEZ POCQUET

P307 - Variant centromérique d'un chromosome 6 de découverte prénatale - Carole Goumy

P308 - Goldenhar-like et délétion 5p - Marion Gérard

P309 - Découverte d'un Chromosome marqueur (46, XY, der(6)add(6)(q26)) chez un enfant marocain
Identification of a new Supernumerary marker Chromosomes (sSMC) (46, XY, der(6)add(6)(q26)) in a moroccan boy - Nadia Serbati

P310 - Délétions Xp11.22 impliquant les gènes CLCN5, SHROOM4, BMP15 et CCNB3 associées à une hydrocéphalie, une tubulopathie et un retard de croissance - Lucie TOSCA

P311 - Duplication 17p11.2 : phénotype chez deux adultes avec syndrome de Potocki-Lupski. - Audrey LANNOY

P312 - Présentation visuelle inhabituelle des microdélétions 22q11.2 - Odile Boute

P313 - La réversion sexuelle : étude par cytogénétique classique, par FISH et par PCR-multiplex d'une cohorte de patients.
Sexual reversion: a study by conventional cytogenetics, FISH and PCR-multiplex a cohort of patients. - Imen Ben Hadj Hamida

P314 - Caractérisation d'une anomalie chromosomique chez un patient suspect de syndrome de Wildervanck - Dorothée Cailley

P315 - Identification, par CGH Array, d'une délétion partielle du gène AUTS2 chez un patient présentant un retard de développement avec troubles de la série autistique. - N Le Meur

P316 - Délétion 8q21.11 chez un enfant atteint de retard mental syndromique : un nouveau syndrome microdélétionnel avec un phénotype reconnaissable. - A Goldenberg

P317 - Identification par CGH Array d'une délétion partielle du gène BRWD3 chez un patient présentant une déficience intellectuelle modérée et une avance staturale. - V Drouin-Garraud

P318 - Délétion interstitielle 6p22.3 : définition d'une nouvelle région minimale critique. - Lucile Pinson

P319 - Délétions distales 2q37 : travail collaboratif sur une série de 14 patients - Camille Leroy

P320 - Caractérisation d'une duplication cryptique Xq28 résultant de la recombinaison d'une inversion péricentrique du chromosome X - P Chambon

P321 - Caractérisation clinique et moléculaire d'une trisomie 8q et une monosomie 18q partielles chez un nourrisson de 3 mois - Hanène Hannachi

P322 - Intérêt de l'exploration ciblée des régions subtélomériques et de 21 régions chromosomiques impliquées dans des syndromes microdélétionnels chez des foetus présentant une anomalie de la clarté nucale et un caryotype normal - Laetitia Gouas

P323 - Caractérisation moléculaire par puce à ADN d'une délétion terminale 3pter familiale à phénotype normal. - Laurence LOHMANN

P324 - Délétion 16p11.2 en mosaïque chez une mère transmise à l'état constitutionnel chez un enfant. - Bernard Grisart

P325 - Une forme clinique et cytogénétique rare de syndrome de Turner : implications pour le conseil génétique - MF Portnoï

P326 - Etude de l'expression du gène MEST dans les villosités choriales de fœtus trisomiques 21 - Wiem Ayed

P327 - Troubles de la reproduction et anomalies chromosomiques autosomales - OLFA KILANI

P328 - Micro réarrangements génomiques de IL1RAPL1 et déficience intellectuelle liée au chromosome X - Asma Ali Khan

P329 - Syndrome d'aneuploïdie en mosaïque : à propos d'une observation - Lilia kraoua

P330 - Association de maladies chromosomiques : à propos d'une observation - Ines Ouertani

P331 - Trois nouveaux cas de délétion 15q21 emportant le gène FBN1 chez des patientes adressées pour un retard global des acquisitions. - Capucine Hyon

P332 - Spina bifida aperta et délétion partielle du gène BRCA1
Spina bifida aperta and BRCA1 partial délétion - Céline BONNET

P334 - Translocation t(1;12)(p13.1;q24.1) équilibrée en mosaïque de novo découverte chez un patient avec un trouble envahissant du développement. De novo balanced reciprocal translocation t(1;12)(p13.1;q24.1) mosaicism in a patient with behavior disorder. - Jean Gekas

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques- de P257 à P361

P335 - Variabilité phénotypique du syndrome du Cri du Chat familial.
Phenotypic intra familial variability in Cri du Chat Syndrome. - Ikhlas Ben Ayed

P336 - Anomalies chromosomiques et retard de croissance intra- utérin : bilan de 11 ans d'étude - Molka kammoun

P337 - Chromosome 20 en anneau non révélé par une épilepsie à propos d'une observation.
Ring chromosome 20 syndrome not associated with epilepsy: one case report. - Ikhlas Ben Ayed

P338 - L'expression phénotypique en cas d'inversion péricentrique du chromosome 9 : à propos de deux cas cliniques et revue de littérature
Phenotypic expressivity in Pericentric inversion of chromosome 9 : case reports and review of littérature - Nadia Serbati

P339 - Les anomalies chromosomiques au CHU Hassan II de Fès. A propos de 400 caryotypes. - KARIM OULDIM

P340 - Les anomalies chromosomiques de structure diagnostiquées au sein de l'unité de génétique médicale du CHU HASSAN II de FES - KARIM OULDIM

P341 - Première observation mondiale d'une double aneuploïdie 48,XXX,+18/47,XX,+18 - KARIM OULDIM

P342 - L'hybridation in situ en fluorescence, FISH (Fluorescent in Situ Hybridization) : expérience du CHU Hassan II de Fès. - KARIM OULDIM

P343 - Anémie de Fanconi au CHU Hassan II Fès A propos de 3 observations - KARIM OULDIM

P344 - Cytogénétique classique et moléculaire des dysgonosomies au CHU Hassan II de FES. - KARIM OULDIM

P345 - Caractérisation des points de cassure d'une translocation t(X;7)(q11.2;p11.2) associée à une hypomélanose d'Ito - Saloua Toujani

P346 - Analyse cytogénétique de cellules pluripotentes induites (iPS) issues de cellules sénescentes de personnes âgées - Franck Pellestor

P347 - Analysis of the SRY gene in a familial case of XY female syndrome - Nouha Bouayed Abdelmoula

P348 - La Délétion 1q42-q44 : un nouveau syndrome associé à l'agénésie du corps calleux?
The 1q42-q44 deletion : a new syndrome associated with agenesis of the corpus callosum? - Sarra Dimassi

P349 - Délétion interstitielle de la bande chromosomique 2p21 avec des anomalies oculaires. Instertitial deletion of chromosomal band 2p21 with eye anomalies. - Jacques Puechberty

P350 - La dysgénésie gonadique pure 46,XY dans sa forme familiale, associée à un hypogonadisme hypogonadotrope: Une éventuelle mutation du gène DAX1 ou DHH ? - Nouha Bouayed Abdelmoula

P351 - Microdélétion 1q44: la caractérisation moléculaire chez 11 patients révèle trois gènes candidats au retard mental et épilepsie - Cedric Le Caignec

P352 - Observation familiale d'une translocation X-autosome t(X,15) avec insuffisance ovarienne prématurée.
Familial translocation t(X,15) with premature ovarian failure - Laila Rifai

P353 - Recherche de la délétion 22q11.2 chez des patients ayant des fentes palatines sans fentes labiales - Sirine Maatoug

P354 - Discordance chez des jumeaux monozygotes porteurs d'une tétrasomie 9p
Monozygotic twins discordant for tetrasomy 9p - Geneviève QUENUM

P355 - Corrélations génotype-phénotype associées à des mutations du gène MEF2C et/ou à des délétions de la région 5q14.3-q15 - Muriel Holder-Espinasse

P356 - La trisomie 21 : expérience du laboratoire de biologie et génétique moléculaire - Sabah Hanachi

P357 - Notre expérience en cytogénétique et nos perspectives - SABAH HANACHI

P358 - Étude cytogénétique et moléculaire d'un anneau du chromosome 14 chez un enfant avec retard mental et épilepsie
Molecular and cytogenetic characterization of a ring chromosome 14 in a boy with mental retardation and epilepsy - Fatma ABDELHEDI

P359 - SYNDROME DE PRADER WILLI - afaf ben itto

P360 - Les anomalies chromosomiques associées malformations cérébrales congénitales une étude cytogénétique conventionnelle et moléculaire d'une cohorte de 45 patients - Sarra Dimassi

P361 - L´importance du CGH-array pour la compréhension
de l´information génétique.

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations - de P362 à P389

P362 - Investigation par séquençage haut débit et CGH haute résolution de deux frères infertiles. - Pierre F. Ray

P363 - Homozygous SMN2 deletion: A possible neuroprotective factor in the Swedish ALS population. - Hélène Blasco

P364 - Identification of a susceptibility locus for venous thrombosis: caution in interpreting results from imputation analysis when linkage disequilibrium extends over a large distance. - David Tregouet

P365 - Estimation de la fréquence du polymorphisme rs12979860 associé au gène IL28B dans la population marocaine et chez les patients atteints d'hépatite chronique C - Mariam Tajir

P366 - Estimation de la prévalence de la Xéroderma pigmentosum au Maroc

P367 - Recherche d'hétérogénéité génétique dans un échantillon de patients bipolaires en fonction de l'âge de début de la maladie. - FLAVIE MATHIEU

P368 - Influence de l'haplotype de la protéine Tau dans l'expression clinique de la MA - Afef Achouri Rassas

P369 - Étude du polymorphisme -491 A/T du gène de l'APOE dans la maladie d'Alzheimer - Afef Achouri Rassas

P370 - Une analyse d'exome démontre l'implication de mutations faux sens des gènes d'actine ACTB et ACTG1 dans le syndrome de Baraitser-Winter, une forme syndromique de pachygyrie - Alain Verloes

P371 - Variants du gène ABCB11/BSEP associés à diverses pathologies rares hépatobiliaires : Expérience du réseau national et corrélations génotype-phénotype. - Véronique Barbu

P372 - OriginMiner : montre-moi tes gènes et je te dirai d'où tu viens. - Marie de Tayrac

P373 - Variants rares et stratification de la population britannique : description et impact sur les études d'association - Marie-Claude Babron

P374 - Recherche d'associations génétiques entre les gènes CARD-8 (C10X) et NLRP3 (Q705K) et la susceptibilité a la polyarthrite rhumatoïde dans la population Tunisienne - Mariem Ben Hamad

P375 - Recherche d'association génétique entre la région 6q23 et la susceptibilité à la polyarthrite rhumatoïde dans la population Tunisienne - Mariem Ben Hamad

P376 - Diagnostic génétique et identification de nouveaux gènes dans les maladies neuromusculaires par séquençage haut débit - Jocelyn Laporte

P377 - Distribution du polymorphisme du 5-HTTLPR du transporteur de la sérotonine chez la population marocaine saine - Sanaa Nassereddine

P378 - Aspects génétiques de l'hypertension artérielle essentielle de l'adulte.

P379 - Identification de 2 loci associés à la cardiomyopathies dilatée humaine par association génome entier (GWAS) - Eric Villard

P380 - Etude génétique de 11 familles Tunisiennes de Bardet-Biedl syndrome

P381 - Etude de l'exome du chromosome X dans l'autisme - Caroline Nava

P382 - Etude génétique et environnementale de l'atrésie des voies biliaires en Polynésie française - Muriel Girard

P383 - La fréquence des variants CYP3A5*1/*3 dans la population marocaine et leur influence sur la dose de tacrolimus requise chez des patients transplantés rénaux - Mustapha ELMACHAD

P384 - Adult-onset spinal muscular atrophy: identification of a new gene encoding a protein linked to DNA-RNA metabolism - J Melki

P385 - Genetic basis of spinal muscular atrophy associated with progressive myoclonic epilepsy - Judith Melki

P386 - Exploration moléculaire des gènes ATP6V1B1et ATP6V0A4 chez des patients tunisiens atteints d'acidose tubulaire rénale distale
Molecular investigation of ATP6V1B1and ATP6V0A4 genes in tunisian families with distal renal tubular acidosis (dRTA) - Amel Haj Khelil

P387 - Déterminants du choix du conjoint et structure génétique de la population marocaine - Hinde HAMI

P388 - Etude d'association de polymorphismes de l'ADN mitochondrial avec le diabète de type 2 dans la population Tunisienne - Rym KEFI

P389 - Etude de la diversité mitochondriale chez une population marocaine (Study of mitochondrial variability in a Moroccan population) - Safaa BOUNACEUR

4. Gènes, chromosomes et cancer - de P390 à P475C

P390 - Recherche de mutations du proto-oncogène RET chez les apparentés de patients atteints de NEM2. - ammar chikouche

P391 - Cancer du sein et mutation du gène de prédisposition BRCA2 - Ammar Chikouche

P392 - Faisabilité de l'utilisation de la méthodologie du photolangage© dans un groupe de paroles chez des femmes porteuses d'une mutation BRCA1 ou BRCA2 - isabelle coupier

P393 - Anomalies génétiques et épigénétiques associées à l'infertilité masculine - ABDELMAJID ELOUALID

P394 - Absence d'une association entre la maladie de Crohn et les variants majeurs du gène NOD2 dans la population marocaine - IMAN HAMA

P395 - Les tumeurs à cellules rénales dites « hybrides oncocytome/carcinome chromophobe » ne montrent pas un profil génomique les rattachant au carcinome chromophobe - Jérôme Couturier

P396 - Etude de CO-ségrégation familiale des VARiants de signification biologique inconnue des gènes BRCA1/2 en vue de l'optimisation du conseil génétique - Sandrine Caputo

P397 - Des marqueurs épigénétiques identifient les glioblastomes MGMT-méthylés faiblement répondeurs à la radiochimiothérapie à base de témozolomide (régime de Stupp) - Jean Mosser

P398 - Une consultation d'oncogénétique dédiée aux enfants atteints de cancer. - Marie-Amélie Met-Domestici

P399 - Faible taux de consanguinité chez les familles à haut risque de cancer du sein.

P400 - Identification des mutations dans le gène PMS2 chez des familles atteintes du syndrome HNPCC: l'intérêt de l'analyse du transcrit - QING WANG

P401 - Identification et étude du retentissement fonctionnel des premières mutations faux-sens de SOX10 dans le syndrome de waardenburg - Asma Chaoui

P402 - Etude GENESIS : quatre ans d'inclusion ! - Séverine Eon-Marchais

P403 - Prédispositions génétiques au cancer du sein et de l'ovaire dans la population suisse : Bilan de l'activité oncogénétique et du dépistage de mutations constitutionnelles dans les gènes BRCA1/BRCA2 entre 1996 et 2009. - Aurélie Ayme

P404 - Analyse du profil génétique des tumeurs neuroblastiques : apport pronostique et corrélation génotype phénotype.
Genetic profil analysis of neuroblastic tumors : prognosis and genotype phenotype correlation. - Saoussen Trabelsi

P405 - Etude de l'implication des miR-215/192/143 dans la susceptibilité à maladie de crohn chez la population marocaine - IMAN HAMA

P406 - Implication du gène PALB2 dans les formes familiales de cancer du sein et/ou des ovaires non BRCA1/2 : criblage par la technique EMMA (Enhanced Mismatch Mutation Analysis). - Daniele MULLER

P407 - Recherche d'altérations constitutionnelles des gènes des microARN du réseau p53 chez des patients évocateurs d'un syndrome de Li-Fraumeni sans mutation détectable du gène TP53 - Isabelle Tournier

P408 - Rareté et faible pénétrance des mutations germinales de ALK chez les enfants atteints de neuroblastome - Franck Bourdeaut

P409 - Analyse fonctionnelle des effets des variations de signification inconnue sur l'épissage de l'exon 7 du gène de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire BRCA2 - Pascaline Gaildrat

P410 - Identification et caractérisation d'une mutation dans l'intron 12 de BRCA2 entrainant l'inclusion d'un pseudo-exon.

P411 - Expression des miRNAs dans les tumeurs des gaines nerveuses associées à la neurofibromatose de type 1 - Julien Masliah-Planchon

P412 - Recherche des mutations ITD et D835 du gène FLT3 dans la LAM à caryotype normal
Search ITD and D835 mutations in FLT3 gene in AML with normal karyotype - hind dehbi

P413 - Criblage des paralogues de RAD51 chez 144 patientes à haut risque de prédisposition génétique aux cancers sein/ovaire, sans mutation BRCA1/2 identifiée. - Virginie CAUX-MONCOUTIER

P414 - Fusion of BCR (22q11.2) and fibroblast growth factor receptor-I (FGFR1) (8p11) genes in chronic myeloid leukaemia in a woman carrying Di George syndrome (22q11.2 deletion on untranslocated chromosome 22) - Nicolas Gruchy

P415 - Evaluation de la morbidité des polyposes digestives rares dans le cadre d'une base de données multicentrique française - Jean Christophe Saurin

P416 - Mutations héréditaires de BRCA identifiées par séquençage haut débit dans un panel de 22 gènes avec multiplexage en amont de la capture - Dominique Vaur

P417 - Retour d'expérience sur la qPCR-HRM en oncogénétique : de la mise au point à la découverte de nouveaux variants - Etienne ROULEAU

P418 - Contribution des mutations du gène PALB2 dans les formes familiales de cancer du sein : analyse de 700 cas et 700 témoins de l'étude GENESIS. - Daniele MULLER

P419 - Etudes génomique et transcriptomique de tumeurs du sein liées à une mutation germinale de BRCA2 - A Rouault

P420 - Nouveau partenaire de RUNX1 dans un cas d'acutisation de leucémie myélomonocytaire chronique - Saloua Toujani

P421 - Estimation du risque par localisation tumorale chez les porteurs d'une altération du gène TP53 dans le syndrome de Li-Fraumeni - Gaëlle Bougeard

P422 - Dog, a spontaneous model for human cancers: examples of histiocytic sarcoma and melanoma

P423 - Recherche de délétion emportant phox2b chez 13 patients sans mutation de ce gène et présentant une hypoventilation centrale, une maladie de hirschsprung et un neuroblastome selon différentes combinaisons - Myriam OUFADEM

P424 - Syndrome de Gorlin et mutations constitutionnelles du gène PTCH1 : nouvelles modalités de criblage, mise en œuvre d'une base UMD des mutations de PTCH1 - Nicolas SEVENET

P425 - Réseau "vivre avec une anomalie du développement en Languedoc Roussillon" structure innovante d'aide à la prise en charge médico-sociale - Béatrice BOLLAERT

P426 - Germline AIP mutations in apparently sporadic pituitary adenomas: prevalence in a prospective single-center cohort of 443 patients - Anne GUIOCHON-MANTEL

P427 - Amplification multiplex couplée au séquençage de nouvelle génération : application au diagnostic de mutation sur les gènes BRCA1 et BRCA2 - Florence Coulet

4. Gènes, chromosomes et cancer - de P390 à P475C

P428 - Mutations constitutionnelles sur le gène RAD51C impliquées dans la prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire - Florence Coulet

P429 - Analyse moléculaire des tumeurs colorectales avec instabilité des microsatellites sans mutation constitutionnelle identifiée sur les gènes de réparation des mésappariements de l'ADN : identification d'une mosaïque germinale sur le gène MSH2. - Florence Coulet

P430 - Cancer de l'endomètre : évaluation des déséquilibres génomiques par hybridation génomique comparative dans le processus de carcinogenèse sur une série de 60 prélèvements. - Floriane Schneider

P431 - Apport du NGS : une nouvelle entité tumorale caractérisée par un remaniement intrachromosomique spécifique. (En cours de révision pour publication)
A novel subtype of bone sarcoma defined by a new gene fusion. (being revised for publication) - Gaelle Pierron

P432 - DNA Sequence quality determination method/Comment définir la qualité d'une séquence d'AND ? - Tetsuro NOGUCHI

P433 - Risques de cancer associés aux mutations des gènes MLH1, MSH2 et MSH6 estimés par l'étude française ERISCAM : quel impact sur la prise en charge du syndrome de Lynch ? - Valérie BONADONA

P434 - Anneau acquis du chromosome 3 avec amplification d'EVI1 dans un syndrome myélodysplasique chez une enfant présentant une dyskératose congénitale - Antoine ITTEL

P435 - Apport du peignage moléculaire dans le diagnostic biologique des leucémies aiguës - Antoine ITTEL

P436 - Importance du test de Micronoyaux (MNs) couplé à l'Hybridation In Situ en Fluorescence (FISH) dans la caractérisation du potentiel génotoxique des anticancéreux chez le personnel hospitalier - Sana BOURAOUI

P437 - Caractérisation épigénomique de tumeurs mammaires Basal- like - Maud Privat

P438 - Une analyse constitutionnelle des gènes BRCA1 et BRCA2 pourrait être proposée devant tout cancer du sein sporadique avant 41 ans - Marine Guillaud-Bataille

P439 - Application de la technique de PCR semi-quantitative à la détection des sujets porteurs d'une délétion hétérozygote du gène SMN1 - yasmina Elaribi

P440 - Identification de nouvelles mutations du gène FLCN chez des patients atteints par le syndrome de Birt-Hogg-Dubé ou présentant un cancer du rein sporadique - Sophie Gad

P441 - Résultats de l'étude cytogénétique des hémopathies malignes après greffe de moelle osseuse : expérience du laboratoire de cytogénétique de l'Institut Pasteur de Tunis - OLFA KILANI

P442 - Investigation des gènes apoptotiques dans les hémopathies malignes familiales

P443 - Deux nouvelles observations cortico-surrénalome / syndrome de lynch : coïncidence ou tumeur rare du spectre ? - CELINE POPULAIRE

P444 - Mise en évidence de mutations des gènes BMPR1A et SMAD4 dans trois familles de polyposes atypiques. - Mathilde Warcoin

P445 - Étude de cohorte française sur l'ataxie télangiectasie (cof-at) : 2003-2012, état d'avancement et premiers résultats - Eve Cavaciuti

P446 - Retour d'expérience sur la qPCR-HRM en oncogénétique : de la mise au point à la découverte de nouveaux variants - Etienne Rouleau

P447 - Diagnostic d'une forme atypique de polypose adénomateuse familiale liée au gène MUTYH par l'étude somatique de KRAS révélant la mutation c.34G>T. - Sophie Lejeune

P448 - Indications de test pour le gène PTEN
Indication for PTEN genetic testing - audrey remenieras

P449 - Mise en évidence d'une t(8;19)(p11.2;q13) impliquant le gène MYST3 chez un nouveau né présentant une LAM5 congénitale - Marie Agnès Collonge Rame

P450 - Chromatine étirée: approche méthodologique et application en cytogénétique moléculaire
Stretched chromatin: methodological approach and application to molecular cytogenetics - Franck Viguié

P451 - Clonal Chromosomal Aberration in Fanconi Anemia Tunisian Patients: Report from the Tunisian Fanconi Anemia Registry - Ahlem AMOURI

P452 - Procédure d'analyse génétique rapide et impact dans la prise en charge thérapeutique des cancers du sein localisés dans un contexte de suspicion de prédisposition - olivier caron

P453 - Le transcrit TEL-AML1 est rarement retrouvé dans les leucémies aigues lymphoblastiques en Tunisie
TEL-AML1 is infrequent in acute lymphoblastic leukemia of tunisian patients - Samia Menif

P454 - Stratégie d'identification de nouvelles mutations responsables du syndrome de Lynch par séquençage nouvelle génération - MP Buisine

P455 - Survenue d'une leucémie aiguë lymphoblastique T 9 ans après une leucémie aiguë myéloïde de l'enfant : lineage switch ou cellule souche commune ? - S Poulain

P456 - Microdeletion 9q22.3: un nouveau syndrome microdélétionnel prédisposant au néphroblastome? - Bertrand Isidor

P457 - Anomalies génétiques et épigénétiques de DLEU7 dans la Maladie de Waldenstrom - S Poulain

P458 - Etudes des gènes BRCA en Martinique, bilan de 5 années de consultations.
Mutations in the BRCA genes in Martinique, 5 years'results of the oncogenetic counseling. - Odile BERA

P459 - Etude du retentissement sur l'épissage de variants de signification inconnue du gène PTEN et évaluation de divers logiciels de prédiction de sites d'épissage. - Françoise Bonnet

P460 - Détermination d'instabilité microsatellitaire dans les tumeurs du cancer colorectal (CCR) par immunohistochimie et biologie moléculaire. Expérience du CHU Hassan II de Fès « Maroc » - Amal Boulouz

P461 - La génomique et l'éligibilité à une thérapeutique ciblée : évaluation du statut Her2 par hybridation in situ en fluorescence dans le cancer du sein. - fouad abbass

P462 - PARKIN inactivation plays an important role in melanocyte oncogenesis and predisposes to cutaneous melanoma - Nadem SOUFIR

P463 - Etude de TMEM127, nouveau gène de susceptibilité au phéochromocytome, au sein d'une cohorte française.
TMEM127 screening in a large cohort of patients with pheochromocytoma and or paraganglioma. - Nasséra Abermil

P464 - Le diagnostic génétique du cancer médullaire de la thyroïde dans l 'est Algérien
Genetic diagnosis of medullary thyroid carcinoma in the east of Algeria - Karima Sifi

P465 - Variation du risque de cancer du sein associé aux facteurs liés aux grossesses dans la cohorte GENEPSO (porteuses de mutation sur les gènes BRCA1/2) : mise en évidence d'une interaction entre parité et localisation de la mutation - Julie Lecarpentier

4. Gènes, chromosomes et cancer - de P390 à P475C

P466 - La confirmation moléculaire du syndrome de lynch. A propos d'une famille marocaine. - KARIM OULDIM

P467 - Rôle des mutations germinales de SUFU et de PTCH1 dans la genèse des médulloblastomes du cervelet - L Brugieres

P468 - Indications des tests génétiques dans les cancers du rein isolés - Sophie GIRAUD

P469 - Etude de l'observance mammaire et ovarienne des femmes porteuses d'une mutation BRCA à partir de l'expérience pilote Bourgogne/Franche-Comté - fanny Coron

P470 - DDB2 est un gène majeur impliqué dans la prédisposition au carcinome basocellulaire multiple et/ou familial

P471 - Intéractions à longue distance du locus 4q35 : les 3 dimensions de la dystrophie facio-scapulo-humérale. - Julia MORERE

P472 - Variabilité épigénétique du syndrome de Di George : conséquences de l'haploinsuffisance de l'histone chaperone HIRA. - Matthieu DEVEZE

P473 - Les variants rares du gène CHEK2 contribuent au risque héréditaire du cancer du sein chez les familles non-BRCA - Alexis Desrichard

P474 - Régulation du rétrogène DUX4 par la méthylation de l'ADN dans la dystrophie Facio-Scapulo-Humérale. - Natacha BROUCQSAULT

P475 - Remodelage de la chromatine du pronucleus mâle: identification de la Yemanucléine-alpha (orthologue de UBN1) comme partenaire fonctionnel de la chaperone Hira du variant d'histone H3.3 - OUNISSA AÏT-AHMED

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire - de P476 à P528

P476 - Diagnostic rapide des aneuploïdes et des syndromes de microdélétions/microduplications en anténatal par la technique MLPA (multiplex ligation-dependent probes amplification) - Bérengère DE MARTINVILLE

P477 - Détection des acides nucléiques libres, ADN, ARN et miRNA dans les exosomes : nouveaux biomarqueurs non-invasifs pendant la grossesse - Annie Levy-Mozziconacci

P478 - Quantification de l'ADN extracellulaire, fœtal et total, dans le sang maternel : Relations avec certaines pathologies fœtales ou materno-fœtales - Annie Levy-Mozziconacci

P479 - Génotypage du Rhésus D foetal sur plasma maternel en routine au premier trimestre de grossesse : deux ans d'expérience en Région PACA - Annie Levy-Mozziconacci

P480 - Exosomes : la nouvelle voie du diagnostic prénatal non-invasif ? - Annie Levy-Mozziconacci

P481 - Intérêt de la CGH-array dans les translocations cytogénétiquement équilibrées détectées in utero. A propos d'une observation. - Annick Toutain

P482 - Diagnostic prénatal, diagnostic pré-implantatoire et néoplasie endocrinienne multiple de type 2A : une problématique délicate. - Isabelle COUPIER

P483 - Trisomie 2 en mosaïque confinée au placenta chez un fœtus porteur d'une omphalocèle - Letizia Crouzet-Ozenda

P484 - Ségrégation méiotique et marqueur chromosomique surnuméraire.

P485 - FISH and tips: automated versus manual scoring for sperm aneuploidy detection - Guillaume Martinez

P486 - Découverte en CGH-Array d'une délétion 18q21.2q21.31 emportant TCF4, chez un fœtus présentant une hypoplasie du corps calleux isolée. - Nathalie Marle

P487 - Mosaïcisme et Diagnostic Préimplantatoire : à propos d'un cas de cavernomatose. - Céline MOUTOU

P488 - Etude du polymorphisme (CAG)n de la polymérase gamma (POLG) chez l'homme infertile dans la population tunisienne
Study of the polymorphism (CAG)n of the polymerase gamma (POLG) in infertile men in the Tunisian population - Siwar Baklouti

P489 - La prise en charge du Diagnostic Préimplantatoire (DPI) à Strasbourg : tout ce que vous souhaitez savoir - Claire KASTNER

P490 - Diagnostic préimplantatoire du syndrome TRAPS - Sophie Scheidecker

P491 - Holoprosencéphalie et délétion interstitielle 13q31.2q33.1 variabilité phénotypique chez des jumeaux monozygotes - Sophie Scheidecker

P492 - Prenatal BACs-on-BeadsTM: Etude prospective multicentrique
Prenatal BACs-on-BeadsTM: a world multicentric prospective experience - François Vialard

P493 - Usefulness of non invasive determination of fetal gender in maternal blood DNA : a 3-year experience at Cochin Hospital - france leturcq

P494 - Diagnostic anténatal prospectif de microremaniements chromosomiques chez 30 fœtus avec syndromes malformatifs complexes par hybridation génomique sur puces à ADN. - Christine Coubes

P495 - Diagnostic échographique anténatal d'un syndrome 48,XXYY : à propos d'un cas - Céline Pebrel-Richard

P496 - Accident vasculaire cérébral hémorragique et mutation dans le gène COL4A1: à propos de 2 observations prénatales
Hemorrhagic stroke and mutation in COL4A1: about two prenatal observations - a ziegler

P497 - Etude des polymorphismes de l'ADN mitochondrial chez l'homme infertile dans la population Tunisienne

P498 - Tétrasomie 5p confirmée après la découverte prénatale d'un seul clone iso5p : à propos de 2 observations.
Mosaic tetrasomy 5p confirmed after birth following prenatal finding of a single isochromosome 5p colony. A report on two cases. - a guichet

P499 - Le diagnostic prénatal dans les maladies à révélation tardive ou à expression variable : quelles modalités pour la prise de décision ? - audrey MALLET

P500 - Premier cas rapporté de diagnostic prénatal d'une mosaïque 45,X/47,XX,+13 : relation phénotype-caryotype et mécanique chromosomique. First prenatal report of 45,X/47,XX,+13 mosaicism in a fetus with multiple malformations : phénotype and occurrence. - Sylvie Taviaux

P501 - Diagnostic pré-implantatoire de la maladie de von Hippel-Lindau - Anne Girardet

P502 - Apport de l'acpa (cgh array) dans la caractérisation d'un marqueur chromosomique surnuméraire en période prénatale. - virginie roze

P503 - Détermination non invasive du sexe fœtal sur sang maternel : Optimisation d'un diagnostic en routine. - Annie Levy-Mozziconacci

P504 - Syndrome 3MC: un diagnostic à évoquer devant une fente labio-palatine chez le fœtus - sabine sigaudy

P505 - La mutation p.Arg117His chez les patients ABCD:
quelles implications pour le diagnostic, le suivi et le conseil génétique ?

P506 - Hypogonadisme hypogonadotrope isolé: Une nouvelle mutation du récepteur de la GnRH - Anne GUIOCHON-MANTEL

P507 - Le Diagnostic Prénatal après un diagnostic présymptomatique dans la maladie de Huntington - audrey mallet

P508 - POLYMORPHISME DES SEQUENCES ALPHA SATELLITES ET FAUX POSITIF DE TRISOMIE 18 EN DIAGNOSTIC PRENATAL PAR FISH INTERPHASIQUE : Présence de matériel hybridant la sonde D18Z1 dans l'hétérochromatine juxtacentromérique du bras long d'un chromosome 9 - Jean Luc Bresson

P509 - Diagnostic prénatal des anomalies chromosomiques en Tunisie : à propos de 15.000 cas - Lilia kraoua

P510 - Translocation robertsonienne homozygote (15;22) et conseil génétique - Nourhene Gharbi

P511 - Apoptose germinale et anomalies de la spermatogenèse d'origine génétique : cas des microdélétions AZFc du chromosome et du syndrome de Klinefelter - Eric Streichemberger

P512 - Etude prospective du diagnostic prénatal de microdélétion 22q11.2 impliquée dans le syndrome de DiGeorge par FISH sur noyaux interphasiques de cellules fœtales non cultivées. - Sophie Brisset

P513 - Conseil génétique prénatal difficile: mosaïque T13 confinée au placenta et T21 en mosaïque. - KONSTANTINOS ALIFERIS

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire - de P476 à P528

P514 - Malformations œsophagiennes en Alsace (France): Epidémiologie, clinique et génétique et évaluation du diagnostic prénatal entre 1995 et 2006. - Bérénice Doray

P515 - Diagnostic anténatal des aneuploïdies par CGH-array à partir d'ADN issu de surnageant de liquide amniotique - adeline Vigouroux-Castéra

P516 - Etude par CGH array de deux chromosomes marqueurs surnuméraires associés à des fausses couches spontanées - Narjes Guediche

P517 - Genetic male infertility field: role of classical Cytogenetic techniques at the era of genomics and proteomics new tools - Nouha Bouayed Abdelmoula

P518 - Epidémiologie des fentes labio-palatines : Expérience du Registre de Malformations Congénitales d'Alsace entre 1995 et 2006. - Bérénice Doray

P519 - Molecular prenatal diagnosis in Tunisia: There are several difficulties to answer parental anxiety and reduce familial suffering - Nouha Bouayed Abdelmoula

P520 - Les genes HSFY dans l'intervalle AZFb du chromosome Y humain ne sont pas nécessaire pour la maturation des cellules germinales méiotiques pendant la spermatogenèse. - Michael Mitchell

P521 - Diagnostic prénatal d'une microduplication 22q11.2 suite à la découverte d'une fente labio-alvéolaire - V Malan

P522 - Diagnostic prénatal d'un dérivé de translocation résultant d'une ségrégation adjacente-2 d'une translocation (14q;21q) non robertsonienne. - Malan V Malan V

P523 - Diagnostic prénatal du phénotype de Binder chez les mères atteintes de maladies auto-immunes - Estelle Colin

P524 - Diagnostic prénatal et devenir des anomalies chromosomiques. Données du Registre de Malformations Congénitales d'Alsace (France) entre 1995 et 2006 - Bérénice Doray

P525 - Application de la technique QF-PCR pour le diagnostic rapide des aneuploïdies des chromosomes 13, 18, 21, X et Y à partir de quelques cellules fœtales micro-disséquées. - Régen Drouin

P526 - Le diagnostic prénatal des anomalies chromosomiques au service de cytogénétique de l'Institut Pasteur du Maroc, 582 cas.
Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities at the department of cytogenetics, Institut Pasteur, Casablanca. 582 cases. - Laila Rifai

P527 - Diagnostic préimplantatoire, qu'en est-il de la situation québécoise? - Chantal Bouffard

P528 - Stomatocytose héréditaire : une cause méconnue d'ascite fœtale - Gilles Morin

6. Dépistage, conseil génétique et éthique - de P529 à P587

P529 - Étude comparative sur le métier de conseiller en génétique dans 17 pays Européens - Christophe Cordier

P530 - Étude comparative du métier de conseiller en génétique entre la France et le Canada - Elsa LE BOETTE

P531 - Un pas vers la démarche qualité dans un laboratoire de génétique moléculaire : l'habilitation du personnel technique - Marie-Renée Durou

P532 - Démographie des jeunes généticiens issus du Diplôme d'Etudes Spécialisées « Génétique Médicale, Clinique, Chromosomique et Moléculaire » (DES 48) - Isabelle Marey

P533 - Une duplication de 20pb identifiée en 3'UTR de MSH6 dans des familles françaises présentant un syndrome de Lynch, affecte l'efficacité de polyadenylation de l'ARNm de MSH6. - Christine Toulas

P534 - Intérêt de l'IRM cérébrale des parents lors de la découverte anténatale d'une anomalie cérébrale foetale. A propos de deux observations. - Viviane HIMILY

P535 - Expression rétinienne inattendue sur trois générations de femmes, s'avérant être conductrices de rétinopathie pigmentaire liée au chromosome X. - JOSSELINE KAPLAN

P536 - Analyse moléculaire du gène MECP2 a propos d'une cohorte de 15 patientes Algériennes - Belaid Imessaoudene

P537 - Mise au point de deux techniques de screening du syndrome de l'X fragile en Algérie - Belaid Imessaoudene

P538 - Les enjeux psychologiques parentaux et familiaux liés au syndrome génétique d'un enfant. The parental and family psychological stakes linked to the genetic syndrome of a child. - Eva TOUSSAINT

P539 - Amélioration du recueil des données pré-analytiques pour les demandes d'analyses des gènes SOD1 et AR émanant du centre de référence de la sclérose latérale amyotrophique Île de France du GH Pitié-Salpêtrière (AP–HP) - Cécile CAZENEUVE

P540 - Quality assurance in genetic testing of hereditary periodic fevers (HRFs): Genotyping and beyond - Isabelle TOUITOU

P541 - Analyse moléculaire du gène HPS1 chez deux patients présentant un albinisme oculocutané - Audrey Rouault

P542 - L'annonce en génétique:construction d'un protocole.The genetics announcement : construction of a protocol - Eva Toussaint

P543 - Diagnostic prénatal d'un syndrome d'Angelman par MLPA : aspect méthodologique et conséquences cliniques - B DE MARTINVILLE

P544 - Étude de la transmission de l'information au sein des familles BRCA à distance du rendu de résultat. - Charlène RAMBAUD

P545 - La haute fréquence de la mutation W1327X du gène AGL au centre Tunisien: preuve d'un effet fondateur d'un grand intérêt pour le conseil génétique pour la glycogénose de type IIIa - Amira Mili

P546 - InfoRétino : Projet d'information sur la prédisposition au rétinoblastome auprès des jeunes adultes ayant été atteints dans l'enfance - Marion Fassy-Colcombet

P547 - Un syndrome exceptionnel : le syndrome child quel conseil génétique pour la descendance. - Françoise Girard

P548 - La compréhension de l'information génétique dans la dystrophie myotonique de Steinert : A propos de 35 patients

P549 - Malformations urogénitales au Cameroun, bilan après 2 ans d'une prise en charge par une équipe France-Suisse-Cameroun.
Urogenital malformations in Cameroun: Status after 2 years of treatments by a french,swiss,cameroon team.

P550 - Intérêt du diagnostic présymptomatique dans le cancer médullaire de la thyroïde
Interest of presymptomatic diagnosis in medullary thyroid cancer - HIND DEHBI

P551 - Delayed diagnosis of Fanconi anaemia at advanced age: a case report with clonal cytogenetic aberrations in bone marrow.
Diagnostic tardif de l'anémie de Fanconi: à propos d'un cas présentant des anomalies chromosomiques clonales. - Ahlem AMOURI

P552 - Evolution sur 12 ans des indications à réaliser un diagnostic prénatal après introduction du dépistage combiné du 1er trimestre à Genève
test, prénatal, 1er trim - Sophie Dahoun

P553 - Evolution de la dysmorphie faciale dans le syndrome de Cohen : quelques indices pour un diagnostic plus précoce - Laurence Faivre

P554 - Mutation p.Arg156Cys du gène TGFB1 : syndrome de Camurati-Engelmann ou de Ribbing ? - Corinne Collet

P555 - Corrélation génotype-phénotype du syndrome de Usher - Charlotte Sain-Oulhen

P556 - Continuum clinique entre les syndromes de Bardet-Biedl et d'Alström confirmé par le séquençage systématique des gènes de ciliopathies. - Sophie HELLE

P558 - Quel conseil génétique pour les couples présentant des non-disjonctions à répétitions ?
Which genetic counselling for couple with recurrent non-disjunction ? - Emmanuelle Haquet

P559 - La maladie de Sandhoff en France : caractérisation des anomalies moléculaires chez douze patients - Pauline Gaignard

P560 - Variations de l'état psychologique de patients porteurs d'une mutation SDH inclus dans un protocole national de dépistage des tumeurs (PGL-EVA) : premiers résultats. - Khadija LAHLOU-LAFORET

P561 - Annonce du diagnostic d'une maladie génétique et prise en charge psychologique des patients et de leur entourage. Announce of the diagnosis of a genetic disease and psychological care of the patient and their family - Eva TOUSSAINT

P562 - Ateliers EuroGentest : Un accompagnement interactif pour préparer l'accréditation des laboratoires de génétique - Emmanuelle Girodon

P563 - L'offre de tests génétiques : une activité nécessairement transfrontalière - Mariana Jovanovic-Lassalle

P564 - Validation des méthodes de diagnostic des maladies génétiques en vue de l'accréditation : l'exemple de la technique PCR pour déterminer la taille de la répétition de triplets dans le gène FMR1. - Eulalie LASSEAUX

P565 - Démarche de conseil génétique dans une famille de déficience intellectuelle liée à l'X syndromique rare.
Genetic counselling step for a rare X linked syndrome with mental retardation. - Cécile OHEIX

P566 - Paragangliomes : entre démarche diagnostique et conseil génétique (A propos d'une famille)

P567 - Contraction d'une prémutation du syndrome de l'X fragile lors de la transmission maternelle - Cécile ZORDAN

6. Dépistage, conseil génétique et éthique - de P529 à P587

P568 - Mutation familiale du gène PTEN avec un phénotype modéré : difficultés du conseil génétique - Tiffany BUSA

P569 - Intérêt de l'étude exhaustive de l'ADNmt à travers l'analyse d'une cohorte de 734 patients suspects de déficit de la chaîne respiratoire. - Véronique Paquis-Flucklinger

P570 - Les nouvelles technologies guident elle la pratique médicale ? - Sophie Julia

P571 - Révélations inattendues lors d'un examen en puces à ADN
Que faire ? Que dire ? - audrey mallet

P572 - TRMU gene mutations in two cases of acute liver failure in children - Pauline Gaignard

P573 - Troubles neurologiques et difficultés du conseil génétique dans le syndrome oculodentodigital associé à des mutations dans GJA1
Neurological manifestations and genetic counselling challenges in oculodentodigital syndrome due to GJA1 mutations - Elodie SCHAERER

P574 - Diagnostic prénatal de la mucoviscidose en Tunisie : stratégie et acceptabilité
Prenatal diagnosis of cystic fibrosis in Tunisia: strategy and acceptability - Sondess HADJ FREDJ

P575 - Valeurs limites de l'hémoglobineA2 : étude hématologique et moléculaire.
Borderline hemogobinA2 values: hematological and molecular study.

P576 - Indication du dépistage du cancer du sein par IRM mammaire chez les femmes à haut risque familial sans mutation BRCA1 ou BRCA2: corrélation entre les modèles de calcul de risque et la prise en charge en oncogénétique à l'Hôpital René Huguenin - CLAIRE SENECHAL

P577 - L'accès aux explorations génétiques dans le contexte géopolitique, géoéconomique, social et environnemental actuel de la Tunisie: contraintes et perspectives - Nouha Bouayed Abdelmoula

P578 - Récurrence intrafamiliale de la glycogénose de type II : faut-il élargir le dépistage des hétérozygotes ?

P579 - To understand the genetic basis of a disorder of sexual development is a primordial key in the medico-psycho-social assistance of affected individuals and members of their family - Nouha Bouayed Abdelmoula

P580 - GENECA : Expérience pilote alsacienne pour la prise en charge multidisciplinaire des personnes prédisposées héréditairement aux cancers.
GENECA: a French regional network for multidisciplinary management of patients at risk of inherited cancers - CM MAUGARD

P581 - Réévaluation du rôle de APOE dans la maladie d'Alzheimer: un gène majeur semi-dominant - Emmanuelle Genin

P582 - Profil mutationnel du gène AAAS chez des familles Maghrébines - Fakhri kallabi

P583 - GDiT : La base de données des maladies génétiques en Tunisie - Lilia Romdhane

P584 - PLAKOPHILIN2B ISOFORM IS NOT DETECTED IN HUMAN HEART TISSUE: CONSEQUENCES FOR THE GENETIC SCREENING OF ARRHYTHMOGENIC RIGHT VENTRICULAR CARDIOMYOPATHY - Eric Villard

P585 - RMGH, « Revue Méditerranéenne de Génétique Humaine » : Pourquoi une revue Méditerranéenne de Génétique Humaine ? - valérie delague

P586 - Le Syndrome de Goltz : A propos d'un cas - Mohamed Ali Ksentini

P587 - Les mutations fondatrices dans la population Tunisienne : implication dans le diagnostic des maladies génétiques dans les populations de l'Afrique du Nord et du Moyen Orient - Lilia Romdhane

7. Développement et foetopathologie - de P588 à P611

P588 - Associated malformations among infants with anophthalmia and microphthalmia - Claude STOLL

P589 - GLI3 est rarement impliqué dans le syndrome OFD associé à des anomalies de la ligne médiane - Christel Thauvin-Robinet

P590 - La mutation c.268C>T (p.R90X) du gène PORCN chez un nourrisson marocain atteint du syndrome de Goltz - Ilham Ratbi

P591 - Famille marocaine avec amélogénèse imparfaite, surdité et lésions cutanées des paumes des mains : nouveau cas de syndrome d'heimler - Ilham Ratbi

P592 - La stomatocytose héréditaire à cellules déshydratées (DHSt) : une cause hématologique rare d'anasarque fœtale récidivante.
A propos d'une observation familiale. - SOPHIE BLESSON

P593 - Hétérogénéité génétique des côtes courtes-polydactylie de type II/ IV - Valérie Cormier-Daire

P594 - Cas rare de syndrome de cokayne-like chez une patiente marocaine - afaf lamzouri

P595 - Anomalies de fermeture du tube neural isolées : un modèle de pathologie épigénétique du développement précoce ? - Bénédicte GERARD

P596 - Syndrome de Kabuki chez un patient marocain et revue de la littérature - nawfal Fejjal

P597 - Etude en Analyse Chromosomique sur Puces à ADN de 70 fœtus porteurs de malformations cérébrales syndromiques. - Eudeline ALIX

P598 - Nouveau cas du syndrome de Johnson-McMillin chez une patiente marocaine - Ilham Ratbi

P599 - Forme familiale du syndrome de Simpson-Golabi-Behmel liée à la mutation c.1666G>A (p.Gly556Arg) du gène GPC3 - Ilham Ratbi

P600 - Syndrome de Stüve-Wiedemann : présentation fœtale à propos d'un cas lié à des mutations à l'état hétérozygote composite du gène LIFR. - Anne DIEUX

P601 - Diagnostic prénatal d'une trisomie 15 en mosaïque : apport des puces oligonucléotidiques SNP dans la détermination du mécanisme de formation - Sandra Chantot-Bastaraud

P602 - Hétérotopie nodulaire, anomalies vertébrales, agénésie unilatérale du membre supérieur, rein en fer à cheval et retard mental. Un nouveau syndrome ? - Myriam chaabouni

P603 - De l'intérêt d'un examen clinique et radiologique attentif : diagnostic d'un syndrome de Fraser associé à un syndrome 3M chez un fœtus. - Marie Josée Perez

P604 - Intérêt de l'examen fœtopathologique dans le diagnostic et la compréhension des malformations cérébrales isolées en anténatal, à propos d'une série de 295 cas. - Louise DEVISME

P605 - Phénotype de 74 foetus présentant une délétion 22q11./Seventy-four fetal phenotypes with 22q11 deletion. - Anne-Claire Noel

P606 - Evaluation de l'implication du gène MEF2C dans l'étiologie moléculaire du syndrome de Rett.
MEF2C mutation screening in Rett syndrome patients. - Laëtitia Lambert

P607 - Importance de l'examen foetopathologique dans le diagnostic étiologique d'une anomalie du rayon radial, à propos de 19 cas. - Laurence Loeuillet

P608 - Profil génomique germinal et somatique des gènes NR5A1, MAMLD1 et AR dans l'hypospadias. - Matthieu Peycelon

P609 - D'un signe inhabituel anténatal à un diagnostic rare : Hyperéchogénicité colique distale au troisième trimestre de grossesse et syndrome CDG 1a.
Unreported association of fetal hyperechogenicity of distal bowel and CDG 1A syndrome. - Laëtitia Lambert

P610 - « Fetal valproate syndrome » récurrent :
Intérêt d'une prise en charge multidisciplinaire - Neïla Belguith

P611 - Co-transmission autosomique dominante d'une maladie des brides amniotiques et d'un syndrome lymphoedème-distichiasis - Marjolaine Willems

8. Recherche translationnelle:Physiopathologie,modèles cellulaires et animaux,approches thérapeutiques - de P612 à P655

P612 - "Mieux comprendre pour mieux se battre " : Stages pratiques de biologie pour les membres d'associations de maladies chroniques : une action unique en Europe et initiée à Marseille (Tous Chercheurs). - Marion Mathieu

P613 - Altered microtubules dynamics in Mecp2-deficient astrocytes - Juliette Nectoux

P614 - Des oligonucléotides antisens pour corriger la première cause moléculaire à l'origine d'amaurose congénitale de Leber. - Jean-Michel ROZET

P616 - The Institut Clinique de la Souris - ICS (Mouse Clinical Insitute - MCI) is a research infrastructure of excellence for translational research and functional genomics providing a comprehensive set of specialised services to academic and industrial users. - Tania Sorg

P618 - Genomic imprinting disruption of the mouse Necdin gene: consequences and causes - Françoise Muscatelli

P619 - Interaction entre SOX10 et les intégrines β1 au cours du développement du système nerveux entérique - Nadège BONDURAND

P620 - In mice deficient for the Magel2 imprinted gene, alterations of feeding and social behaviours, are both rescued by oxytocin; a therapeutic approach for Prader-Willi syndrome. - Françoise Muscatelli

P621 - Les polymorphismes du TGF beta1 utilisés comme facteurs prédictifs de la réponse clinique au rituximab dans la polyarthrite rhumatoïde. - Isabelle Touitou

P622 - Un modèle levure pour des pathologies mitochondriales a permis l'identification de drogues actives contre des maladies mitochondriales humaines - Marc Blondel

P623 - Développement d'un essai fonctionnel de la voie p53 ex vivo - Jean-Michel Flaman

P624 - L'accumulation de formes insolubles de la protéine FUS humaine est toxique dans un modèle drosophile de démence lobaire frontotemporale (DLFT) - Magalie Lecourtois

P625 - MINERALOCORTICOID RECEPTOR MUTATIONS AND A SEVERE RECESSIVE PSEUDOHYPOALDOSTERONISM - Maria-Christina Zennaro

P626 - A truncating mutation of the PTCHD1 gene, which encodes a transmembrane protein expressed in postsynaptic dendritic spines, is associated with non syndromic intellectual disability - Frédéric Laumonnier

P627 - PRE CLINICAL MUTATION CARRIERS FROM FAMILIES WITH DILATED CARDIOMYOPATHY AND ANGIOTENSIN CONVERSION ENZYME INHIBITOR (the PRECARDIA study) - Philippe Charron

P628 - Analyse de variants de signification inconnue du gène ABCC8 par un test fonctionnel d'épissage. - Cécile Saint-Martin

P629 - Identification de nouveaux biomarqueurs de la Progéria de Hutchinson-Gilford dans le cadre du développement d'approches thérapeutiques - Annachiara De Sandre-Giovannoli

P630 - Réponse pharmacogénétique de la tianeptine dans la dépression : association de gènes des voies glutamatergique et sérotoninergique - Nicolas RAMOZ

P631 - Impact de la méthode de culture cellulaire sur l'instabilité génomique des cellules souches embryonnaires humaines (hES) - Lucie TOSCA

P632 - BMN111, un analogue du CNP, stimule le croissance osseuse et corrige le nanisme dans deux modèles murin Fgfr3 - Laurence Legeai-Mallet

P633 - Traitement pharmacologique de la souris modèle du syndrome de Rett par des agents pharmacologiques ciblant les systèmes bioaminergiques - Jean Christophe Roux

P634 - Déterminisme génétique du Kératocône chez l'homme : analyse du transcriptome

P635 - Modèles murins de CMT4H par ablation conditionnelle du gène fgd4 dans les cellules de Schwann et dans les motoneurones - Clothilde Esteve

P636 - Analyses moléculaires des familles tunisiennes atteintes de diverses formes de la maladie de Charcot Marie Tooth - Chokri Boubaker

P637 - Une nouvelle mutation dans le gène FGD4/FRABIN est responsable de la maladie de la maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 4H (CMT4H) dans une famille tunisienne consanguine. - Chokri Boubaker

P638 - Differentiation of disease-specific iPS cells into retinal pigment epithelium for gene therapy studies

P639 - Présentation de l'étude ACTHYF : « Evaluation de l'efficacité d'un traitement systématique par acide folinique et hormone thyroïdienne sur le développement psychomoteur du jeune enfant trisomique 21 ». - Clotilde MIRCHER

P640 - Impact d'une surexpression modérée du gène Mecp2 sur les fonctions cognitives, motrices et autonomes chez la souris - Rita EL KHOURY

P641 - Latéralité et cognition: apports de la comparaison entre patients porteurs d'anomalies génétiques (Trisomie 21, délétion 17q11.23, délétion 22q11.2) - Michèle Carlier

P642 - Le Bézafibrate corrige in vitro les déficits de la chaîne respiratoire résultant de mutations du complexe I de l'ADN mitochondrial. - Stéphanie GOBIN-LIMBALLE

P643 - Physiopathologie de l'atteinte cardiovasculaire dans les hyperhomocysteinemies : Implication de l'adénosine - Anne Fabre Chalancon

P644 - Quels modèles pour l'étude de la physiopayhologie de la maladie de Charcot-Marie-Tooth de type AR-CMT2A - Sitraka Rabarimeriarijaona

P645 - Deux nouvelles mutations dans le gène FGD4 causent la maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 4H - valérie delague

P646 - Apo E alleles in algerian multiple sclerosis patients

P647 - Le Centre de Ressources Biologiques BioJeL (CRB-BioJeL) : un atout pour la recherche sur les déficiences intellectuelles d'origine génétique.
CRB-BioJeL : an asset for research on the genetic intellectual disabilities. - Samantha Stora

P648 - Effets de la déficience en IL6 et de l'hypercholestérolémie sur la survie du greffon et sur l'alloréponse immunitaire. - Houda Yacoub-Youssef

P649 - Des corps nucléaires PML filamenteux contiennent la Progerine dans les fibroblastes de patients atteints de Progéria - Annachiara De Sandre-Giovannoli

P650 - Anomalies des fonctions et de la dynamique mitochondriales chez des patients SPG31 - Cyril Goizet

P651 - Le traitement L-arginine réduit le déficit énergétique dans un modèle de type neuronal reproduisant le syndrome MELAS - vincent procaccio

8. Recherche translationnelle:Physiopathologie,modèles cellulaires et animaux,approches thérapeutiques - de P612 à P655

P652 - Characterization of visual impairment in Wfs1 (Wolfram syndrome 1)-deficient mice. Caractérisation de l'altération visuelle de la souris Wfs1-/- (Wolfram syndrome 1). - Delphine Bonnet Wersinger

P653 - Évaluation de la thérapie génique in vivo pour le traitement de la cardiomyopathie associé à l'ataxie de Friedreich à l'aide d'un vecteur viral adéno-associé (AAV10) - BRAHIM BELBELLAA

P654 - Haploinsuffisance du gène TSHZ3 et phénotypes neurocognitifs et comportementaux. - Laurent Fasano

P655 - La région D21S17-ETS2 de HSA21 contribue aux phénotypes cognitifs moteurs et cérébraux chez des souris modèle de trisomy 21 (Down syndrome) - Pierre Roubertoux

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P001 - 8 NOUVELLES MUTATIONS DU GENE RAI1 CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DU SYNDROME DE SMITH-MAGENIS ET NON PORTEURS DE LA DELETION DE LA REGION CHROMOSOMIQUE 17P11.2

C Dubourg (1), F Bonnet-Brilhaut (2), A Toutain (3), C Mignot (4), A Jacquette (4), A Dieux (5), M Gérard-Banluet (6), S Julia (7), S Odent (8), C Bendavid (9), C Barthélémy (2), A Verloes (6), V David (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Pontchaillou, Rennes, France
2. Service de Psychiatrie, CHRU Bretonneau, Tours, France
3. Service de Génétique, CHRU Bretonneau, Tours, France
4. Service de Génétique Clinique, CHU La Pitié Salpêtrière, Paris, France
5. Service de Génétique Clinique, CHRU, Lille, France
6. Service de Génétique Clinique, CHU Robert Debré, Paris, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU Purpan, Toulouse, France
8. Service de Génétique Médicale, CHU Hôpital Sud, Rennes, France
9. Service de Biochimie, CHU Pontchaillou, Rennes, France

Le syndrome de Smith-Magenis (SMS) se caractérise par un retard mental avec retard de langage, des troubles du sommeil, des troubles du comportement de type auto-agressivité voire hétéro-agressivité, une dysmorphie faciale et une brachydactylie.

La prévalence de ce syndrome est estimée à 1/25.000 naissances et il est dû dans 90% des cas à une microdélétion chromosomique interstitielle de la région 17p11.2.

Les mutations du gène RAI1 (localisé en 17p11.2) représentent la deuxième cause de ce syndrome.

Nous avons analysé par PCR-séquençage le gène RAI1 chez 70 patients présentant un phénotype évocateur du SMS mais non porteurs de la délétion de la région 17p11.2, et avons mis en évidence des mutations de novo chez 8 d'entre eux (11,4%) : 2 mutations non-sens (p.Arg80X et p.Gln433X), 5 mutations qui décalent le cadre de lecture et aboutissent à la synthèse d'une protéine tronquée, et une mutation faux-sens (p.Arg1172Cys).

Même si toutes ces mutations touchent le troisième exon qui code pour plus de 98% de la protéine, il n'existe pas particulièrement de hot spot. La protéine RAI1 agirait comme régulateur transcriptionnel et ses cibles sont elles-mêmes impliquées dans la régulation transcriptionnelle, la croissance cellulaire et la régulation du cycle cellulaire, le développement squelettique et osseux, les métabolismes lipidique et glucidique, le développement neurologique et les fonctions comportementales, et l'activité circadienne.

Les patients avec mutation présentent un retard mental (8/8) quoique moins marqué que chez les patients porteurs d'une délétion, une dysmorphie faciale (8/8) et des anomalies des extrémités (8/8), des troubles majeurs du sommeil (7/8) avec une inversion du cycle de la mélatonine, des troubles du comportement (7/8) et un surpoids - voire une obésité - plus marqué que chez les patients avec délétion (7/8). Or RAI1 régulerait l'expression de BDNF, neurotrophine jouant un rôle important dans la régulation de la prise alimentaire, du métabolisme énergétique, et de la prise de poids.

Par contre, contrairement aux patients porteurs d'une délétion, ils ne présentent pas d'anomalies vicérales ni d'épilepsie, suggérant l'implication d'un autre gène de la région 17p11.2 dans ces caractéristiques phénotypiques plus fréquemment retrouvées chez les patients avec délétion.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P002 - CONGENITAL NEUTROPENIA WITH RETINOPATHY, A NEW PHENOTYPE WITHOUT MENTAL RETARDATION CAUSED BY VPS13B MUTATIONS

L Gueneau (1), L Duplomb (1), P Sarda (2), C Hamel (3), B Aral (4), E Lopez (1), N Gigot (4), A Donzel (4), P Callier (5), A Masurel-Paulet (6), JR Teyssier (4), N Drouin (7), S El Chehadeh (1), L Faivre (8), C Thauvin (8)

1. 1. Equipe émergente GAD « Génétique et Anomalies du Développement », IFR 100 Santé STIC, Université de Bourgogne, DIJON, France
2. 2. Service de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, Montpellier, France
3. 4. Département de génétique et thérapie des cécités rétiniennes, INSERM U 583, Institut des Neurosciences de Montpellier, Montpellier, France
4. 5. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon, DIJON, France
5. 6. Laboratoire de Cytogénétique, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon, DIJON, France
6. 8. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs» du Grand Est, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, DIJON, France
7. 7. Inserm UMR 1009, Integrated Research Cancer Institute Villejuif (IRCIV), Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
8. 8. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs» du Grand Est, CHU Dijon, DIJON, France

Le syndrome de Cohen, de transmission autosomique récessive, se caractérise par un phénotype particulier, incluant un retard de développement, une microcéphalie, une dysmorphie faciale caractéristique avec un air jovial, une rétinopathie pigmentaire, et une neutropénie intermittente. Des critères cliniques majeurs ont été publiés avec une sensibilité élevée. Cette maladie est secondaire à des mutations dans le gène VPS13B. A ce jour, plus de 100 mutations différentes ont déjà été rapportées incluant principalement des mutations à l'origine d'un décalage du cadre de lecture, qui conduisent à des protéines tronquées prédisant des allèles non fonctionnels. Nous rapportons ici le cas d'une patiente adulte hétérozygote composite pour 2 mutations d'épissage dans le gène VPS13B (IVS34+2T_+3AinsT et IVS57+2T>C). Cette patiente présente un phénotype atypique associant une microcéphalie (-2.5 DS), une neutropénie congénitale depuis l'âge de 2 ans et une rétinopathie pigmentaire diagnostiquée à l'âge de 22 ans, mais sans obésité (BMI à 18,4 ; N = 18,5 -25) ni retard mental (QI = 100). Les analyses in silico prédisent un épissage altéré pour ces 2 mutations. Des études de séquençage de l'ARN en RT-PCR en amont et en aval de la mutation IVS57+2T>C mettent en évidence trois isoformes anormales d'épissage, ainsi que l'isoforme sauvage. Des analyses similaires autour de la mutation IVS34+2T_+3AinsT ne montrent pas de fragments anormalement épissés. Les résultats préliminaires de RT-qPCR sur une lignée lymphoblastoïde de la patiente montrent une diminution de l'expression des ARNm VPS13B sur 3 fragments différents, suggérant un processus de nonsense-mediated mRNA decay. Ces résultats confirment le caractère causal de ces 2 mutations. Comme cela a pu être précédemment rapporté en présence de mutations d'épissage, l'expression résiduelle d'un ARNm normal et d'une fonction protéique normale est suspectée, ce qui pourrait expliquer le phénotype partiel exceptionnel de la patiente, contrairement aux patients atteints du syndrome de Cohen typique qui présentent uniquement une expression d'ARNm VPS13B anormaux et de protéines tronquées.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P004 - DYSPLASIE MESOMELIQUE DE FRYNS : UNE NOUVELLE FAMILLE.

A Toutain (1), B de Courtivron (2), C Bonnard (2)
1. Service de Génétique, INSERM U930, Faculté de Médecine, Université François Rabelais, CHU Bretonneau, Tours, France
2. Service d'Orthopédie pédiatrique, CHU Clocheville, Tours, France

Les dysplasies mésoméliques représentent un groupe hétérogène de dysplasies squelettiques, dont la dyschondrostéose, due à une haploinsuffisance du gène SHOX et sa forme homozygote, la dysplasie de Langer sont les plus fréquentes et les mieux connues. En plus de la dysplasie de Kantaputra, affection autosomique dominante, due à une duplication du locus HOXD, et de la dysplasie de Verloes-David-Pfeiffer, également autosomique dominante, due à une délétion du gène SULF1, de nombreuses formes inclassées ont été rapportées, le plus souvent dans des familles uniques. Dans ces observations, la dysplasie mésomélique des membres supérieurs était associée à une atteinte des membres inférieurs et dans la plupart des cas à d'autres atteintes squelettiques. Toutefois, en 1988 J-P Fryns a rapporté une forme familiale de dysplasie mésomélique comportant une atteinte bilatérale des membres supérieurs isolée chez une fille et son père. En 2005, Mégarbané a publié une observation similaire chez un garçon dont le père, étonnamment, avait une atteinte unilatérale. Dans ces deux familles, les patients avaient une anomalie sévère du développement du cubitus qui était extrêmement court et épais et associé à un radius très incurvé aboutissant à un raccourcissement et une angulation sévère de l'avant-bras, avec une déviation cubitale de la main, et sans anomalie de Madelung. Les tibias et péronés étaient normaux et les patients avaient une taille normale.
Nous rapportons l'observation d'une fillette et de son père qui présentent une dysplasie osseuse strictement superposable, avec une atteinte mésomélique limitée aux membres supérieurs. Cette nouvelle famille confirme l'existence à part entière de cette entité rare, manifestement autosomique dominante, consistant en une dysplasie mésomélique exclusive des membres supérieurs.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P005 - IDENTIFICATION PAR MLPA DE DELETIONS/DUPLICATIONS D'UN OU PLUSIEURS EXONS DU GENE NF1 DANS LA NEUROFIBROMATOSE DE TYPE 1

A Imbard (1), E Pasmant (2), P Wolkenstein (3), M Vidaud (2), D Vidaud (2), B Parfait (2)
1. Laboratoire de biochimie génétique, Hôpital Beaujon, Clichy, France
2. Service de Biochimie génétique, Hôpital Beaujon, Clichy, Paris, France
3. Service de dermatologie, Hôpital Henri Mondor, Creteil, France

La neurofibromatose de type I (NF1, MIM162200) est une des maladies héréditaires à transmission autosomale dominante les plus fréquentes (1/3500) se manifestant essentiellement par des atteintes dermatologiques. La NF1 est causée par des mutations perte de fonction du gène suppresseur de tumeur NF1. Les anomalies moléculaires retrouvées sont variées : grandes délétions, mutations faux sens, non sens, mutations affectant l'épissage, déletions/insertions intragéniques et leur mise en évidence nécessite l'utilisation successive de différentes techniques.

La stratégie d'étude moléculaire mise en oeuvre dans notre laboratoire consiste à rechercher en première intention la présence d'une délétion complète du gène NF1 par l'analyse de 3 microsatellites intragéniques couplée en cas d'homozygotie à la Q-PCR ciblée sur 4 régions du gène. En l'absence de délétion, une recherche de mutation intragénique est alors réalisée par une double approche de séquençage ADNc/ADNg. Cette stratégie permet de mettre en évidence une anomalie moléculaire du gène NF1 chez près de 92% des patients NF1.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'utilité d'un dosage génique de l'ensemble des exons du gène par MLPA (Multiple Ligation dependent Probe Amplification) en complément de notre approche classique. L'étude préliminaire de génotypage selon notre approche classique a permis d'identifier 37 patients « NF1 négatifs » parmi 564 sujets non apparentés atteints de NF1 recrutés par l'intermédiaire d'un PHRC national. Chez ces 37 patients « NF1 négatifs », nous avons complété nos investigations par un dosage génique par MLPA.

Nous avons ainsi mis en évidence une anomalie quantitative d'un ou plusieurs exons chez 17 d'entre eux soit 46% des patients testés. Les anomalies retrouvées sont des délétions monoexoniques (5 cas dont 4 portants sur le promoteur et l'exon 1), multiexoniques (10 cas, dont une en mosaïque), une double délétion et une duplication. Le clonage des points de cassure est actuellement en cours au laboratoire afin de caractériser le/les mécanismes moléculaires impliqués dans leur apparition.

Notre étude montre que notre stratégie habituelle d'étude moléculaire du gène NF1 doit, en cas de résultat négatif, impérativement être complétée par un dosage génique de l'ensemble des exons du gène. Les kits commerciaux de MLPA permettent de mettre en œuvre cette approche. Ce résultat nous a conduit à reconsidérer l'arbre décisionnel d'étude moléculaire du gène NF1 dans notre laboratoire ce qui nous permet aujourd'hui de mettre en évidence une mutation chez près de 96% des patients atteints de NF1 avec 88% de mutations affectant un ou quelques nucléotides, 4% de délétions complètes du gène NF1 et 4% de délétions/duplications d'un ou plusieurs exons.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P006 - TOUR DU GENOME MITOCHONDRIAL CHEZ UNE PATIENTE TUNISIENNE ATTEINTE DE MELAS : NOUVELLE MUTATION AU NIVEAU DU GENE DE L'ARNT VAL MITOCHONDRIAL.

A WHOLE MITOCHONDRIAL GENOME SCREENING IN A MELAS PATIENT: A NOVEL MITOCHONDRIAL TRNAVAL MUTATION

N Mezghani (1), M Mnif (2), M Kacem (3), E Mkaouar-Rebai (1), I Hadj Salem (1), N Kallel (2), N Charfi (2), M Abid (2), F fakhfakh (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie
2. Service d'endocrinologie, C.H.U. Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie
3. Service de Médecine interne, C.H.U. Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie

L'Encéphalopathie mitochondriale, acidose lactique et les accidents vasculaires cérébraux appelé (MELAS) est un syndrome caractérisé par un large spectre de présentations cliniques et une atteinte d'organes multisystémiques. Cette étude, a porté sur la recherche de la mutation commune la plus fréquente de MELAS m.3243A>G chez une patiente Tunisienne présentant les caractéristiques cliniques de syndrome de MELAS. L'étude a porté également sur la recherche d'autres mutations et délétions au niveau de l'ADNmt étant responsables de l'apparition de MELAS.

L'ensemble des résultats du tour du génome mitochondrial a montré la présence de plusieurs polymorphismes mitochondriaux connus d'une part, d'autre part notre analyse moléculaire a révélé une nouvelle mutation qui est une transition m.1640A> G au niveau du gène de l'ARNt val mitochondrial affectant une Adénine (en liaison Wobble) au niveau de la tige de l'anticodon. Le résultat de l'alignement de l'ARNt val a montré que l'adénine à la position 1640 est conservée au cours de l'évolution. Ce nucléotide est absent chez 150 témoins suggérant sa pathogénicité.

Les résultats de la PCR Long Range ont montré l'absence de toute délétion au niveau des leucocytes sanguins.

De plus, aucune mutation au niveau du gène de la polymérase gamma-1nucléaire (POLG1) n'a été retrouvée. Ces résultats suggèrent une analyse plus approfondie au niveau des gènes nucléaires codant pour des composantes structurales et pour des protéines responsables de la stabilité de l'ADNmt et encore une étude de la machinerie de la phosphorylation oxydative pour expliquer la variabilité phénotypique chez l'index étudiée.

Mots clés: syndrome de MELAS;Mutations mitochondriales ; m.3243A>G ; m.1640A>G;
gène de l'ARNt val mitochondrial

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P007 - LA MUTATION MITOCHONDRIALE M.3337G> A DU GENE DE LA ND1 ET SON ASSOCIATION AVEC LE SYNDROME DE WOLFRAM ET DE CARDIOMYOPATHIE CHEZ UN PATIENT TUNISIEN.

THE MITOCHONDRIAL ND1 M.3337G>A MUTATION IN A PATIENT WITH WOLFRAM SYNDROME AND CARDIOMYOPATHY.

N Mezghani (1), M Mnif (2), E Mkaouar-Rebai (1), N Kallel (2), I Hadj Salem (1), N Charfi (2), M Abid (2), F fakhfakh (1)
1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie
2. Service d'endocrinologie, C.H.U. Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie

Le syndrome de Wolfram (SW) est une affection neurodégénérative héréditaire rare également appelée DIDMOAD (diabète sucré Un diabète insipide, une atrophie optique et surdité). C'est une maladie hétérogène et la caractérisation clinique et biologique complète reste difficile. Notre étude a porté sur un patient tunisien présentant des signes cliniques du syndrome de Wolfram modérée, y compris le diabète, la cardiomyopathie dilatée et des problèmes neurologiques.
Les résultats ont montré la présence de la mutation m.3337G>A mitochondrial qui change une Valine en une Méthionine (V11M) au niveau du gène de la ND1(NADH Déshydrogénase 1) à l'état homoplasmique dans les trois tissus testés (leucocytes sanguins, la muqueuse buccale et le muscle squelettique) par la technique de PCR-RFLP et le séquençage automatique.
En outre, l'analyse a montré que cette transition touche la structure 3D de la protéine de la ND1.
De plus, les résultats de la PCR Long Range a révélé l'absence de délétions au niveau des leucocytes sanguins et la présence de multiples délétions au niveau du tissu musculaire du patient engendrant la perte de plusieurs ARNt et de plusieurs gènes codants au niveau de l'ADNmt.
Mots clés: syndrome de Wolfram ; ND1; m.3337G>A;cardiomyopathie;délétions multiples.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P008 - IMPLICATION D'UN MEME RESIDU DU TNFRSF1A DANS DES MALADIES INFLAMMATOIRES MENDELIENNES ET MULTIFACTORIELLES

I Jéru (1), S Charmion (2), B Copin (3), E Cochet (1), P Cathebras (2), J Gaillat (4), P Duquesnoy (3), S Karabina (5), S Amselem (1)

1. Service de Génétique, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Service de Médecine Interne, CHU Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
3. UMR_S933, INSERM, Paris, France
4. Service des Maladies Infectieuses, CH de la Région d'Annecy, Pringy, France
5. UMR_S933, Université Paris 6, Paris, France

Objectif. Le gène TNFRSF1A, qui code le récepteur au TNF-alpha, est impliqué dans une maladie auto-inflammatoire mendélienne appelée syndrome TRAPS. La plupart des variations de séquence du TNFRSF1A correspondent à des mutations faux-sens et, hormis celles affectant les résidus cystéines hautement conservés, leur caractère délétère reste souvent discutable. Ceci est particulièrement vrai pour la mutation fréquente p.Arg92Gln : elle n'est probablement pas responsable à elle seule de l'apparition du TRAPS (rareté des formes familiales, non ségrégation avec le phénotype dans certaines familles, pénétrance et formes cliniques associées moins sévères, présence du variant dans la population générale), mais constitue néanmoins un facteur de susceptibilité à plusieurs maladies inflammatoires multifactorielles. Cette étude a été entreprise pour déterminer les bases moléculaires d'une forme familiale de TRAPS exceptionnelle par sa taille (13 individus investigués).

Méthodes. Le criblage du TNFRSF1A a été réalisé par PCR-séquençage. La comparaison de la structure 3D et des propriétés électrostatiques des protéines TNFRSF1A normale et mutée a été réalisée à l'aide de logiciels de modélisation in silico.

Résultats. Une mutation, p.Arg92Trp (c.361C>T), a été identifiée à l'état hétérozygote dans l'exon 4 du TNFRSF1A. Elle ségrège avec le phénotype (p inférieur à 5.10-4) au sein de la famille, dans laquelle la pénétrance de la maladie est forte (supérieure à 0.9) et les manifestations cliniques typiques de TRAPS. De plus, la prédiction de l'impact de cette mutation sur la structure protéique révèle des changements conformationnels locaux et des modifications électrostatiques dans différentes régions du récepteur.

Conclusions. Ces résultats montrent clairement l'implication dans la physiopathologie du TRAPS d'une mutation altérant l'arginine 92 du récepteur au TNF-alpha, un résidu dont l'implication dans les maladies inflammatoires est très largement débattu. En considérant les résultats déjà publiés sur les variations affectant cet acide aminé, notre observation révèle que des mutations différentes d'un même résidu protéique peuvent être associées à un spectre clinique rattachant des maladies de transmission mendélienne à des maladies multifactorielles.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P009 - IDENTIFICATION D'UN NOUVEAU GENE DE DEFICIENCE INTELLECTUELLE SYNDROMIQUE PAR ANALYSE COMBINEE DE CARTOGRAPHIE PAR AUTOZYGOTIE ET SEQUENÇAGE D'EXOME : TTI2/C8ORF41

M LANGOUET (1), A SAADI (2), C BOLE-FEYSOT (3), M ZARHRATE (1), P NITSCHKE (4), A MUNNICH (1), M CHAOUCH (2), L COLLEAUX (1)

1. INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
2. Département de Neurologie, Etablissement hospitalier spécialisé de Benaknoun, Alger, Algérie
3. (3) Plateforme de Génomique, Fondation Imagine, PARIS, France
4. Plateforme de Bioinformatique, Fondation Imagine/Université Paris Descartes, PARIS, France

La déficience intellectuelle (DI) est un handicap fréquent qui concerne près de 3 % de la population générale. Si 20 % des DI peuvent être attribuées à des facteurs environnementaux et 40 % à des causes génétiques, l'étiologie de la maladie reste inconnue dans près de 40 % des cas. Les travaux de notre équipe ont pour but d'identifier les mécanismes physiopathologiques responsables de formes autosomiques récessives de DI (DIAR).

Nous avons eu l'opportunité d'étudier une famille consanguine dans laquelle trois enfants sur neuf présentent l'association d'un retard de développement psychomoteur sévère, d'une microcéphalie, d'un retard de croissance, de troubles du comportement, d'une dysmorphie faciale et d'anomalies squelettiques.

La combinaison des méthodes de cartographie par autozygotie et de séquençage d'exome nous a permis d'identifier une variation homozygote (c.1307T>A, p.I436N) dans l'exon 6 du gène TTI2/C8orf41. Cette mutation co-ségrège avec le phénotype, n'a pas été retrouvé chez 510 chromosomes contrôles et entraine la substitution d'un acide aminé très conservé. De plus, divers logiciels de prédiction des effets fonctionnels et/ou structuraux de ce variant suggèrent qu'il s'agisse d'un variant pathogène.

TTI2/C8orf41 code une protéine de 508 acides aminés qui a été récemment caractérisée par son interaction avec les protéines TEL2 et TTI1 au sein du complexe Triple T. Ce complexe intervient dans la maturation et la stabilité des PIKKs (phosphatidylinositol 3-kinase-related kinases), comme ATM et ATR, des senseurs des cassures double brin, capables respectivement d'arrêter ou de désassembler les fourches de réplication, puis d'initier une cascade d'événements de phosphorylation entrainant l'arrêt du cycle cellulaire, l'activation de programmes transcriptionnels et la stimulation des capacités de réparation. La présence des trois protéines (TEL2, TTI1 et TTI2) est essentielle à la fonction du complexe TTT et l'inactivation de TTI2/C8orf41 conduit à une diminution de la survie des cellules après exposition à des radiations ionisantes.

De façon intéressante, plusieurs des signes cliniques observés dans cette famille (microcéphalie, retard de croissance, dysmorphie faciale et anomalies squelettiques) sont également observés dans d'autres maladies de la réparation. Enfin, une autre mutation faux sens de ce gène vient d'être identifiée chez une seconde famille de DIAR (Najmabadi et al, Nature 2011).

En conclusion, ces travaux apportent une démonstration supplémentaire de l'efficacité des nouvelles stratégies de séquençage haut-débit pour le démembrement génétique des DIAR. De plus, l'identification de mutations du gène TTI2/C8orf41 dans un nouveau syndrome de DI confirme le rôle des anomalies de la réparation des lésions de l'ADN dans l'étiologie de ces maladies.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P010 - VERS DES CORRELATIONS GENOTYPE-PHENOTYPE DANS LES MUTATIONS DU GENE GFM1

L Galmiche (1), V Serre (2), M Beinat (2), R Zossou (2), Z Assouline (3), AS Lebre (3), F Chretien (3), R Shenhav (4), A Zeharia (5), A Saada (6), V Vedrenne (2), N Boddaert (7), P de Lonlay (7), M Rio (7), A Munnich (7), A Rötig (2)

1. INSERM U781, Uiversité Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
2. INSERM U781, Université Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
3. Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
4. Rabin Medical Center, Beilinson Campus, Petah Tikva, Israel
5. Day Hospitalization Unit, Schneider Children's Medical Center of Israel, Tel-Aviv, Israel
6. Department of Genetics and Metabolic Diseases, Hadassah-Hebrew University Medical Center, Jerusalem, Israel
7. Department of Genetics, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France

Les déficits multiples de la chaîne respiratoire représentent une cause commune de maladies mitochondriales. Nous rapportons ici deux nouvelles mutations du gène GFM1 codant pour le facteur EFG1 de la traduction mitochondriale dans deux familles consanguines indépendantes. Le patient de la première famille présentait un retard de croissance intra-utérin, des convulsions, une encéphalopathie et un retard majeur de développement. L'IRM cérébrale montrait une hypoplasie vermienne et une atrophie du tronc cérébral similaire à ce qui avait été rapporté chez d'autres patients avec anomalie de traduction mitochondriale. Le patient de la deuxième famille a une insuffisance hépatique et des hypoglycémies. L'analyse de la chaîne respiratoire a mis en évidence un déficit isolé du complexe IV dans le muscle et un déficit multiple dans les fibroblastes des deux patients. Une cartographie par homozygotie réalisée au moyen de SNP (10K) a détecté plusieurs régions d'homozygotie pour chaque patient. Un déficit de la synthèse des protéines codées par l'ADN mitochondrial mis en évidence par une étude de traduction in vitro nous a conduit à étudier les gènes de traduction compris dans les régions d'homozygotie. Nous avons ainsi séquencé GFM1 situé dans une région d'homozygotie commune aux deux patients et identifié deux nouvelles mutations homozygotes (R671C and L398P). La modélisation de la protéine EFG1 a suggéré que la mutation R671C modifierait une interface d'interaction et pourrait provoquer une déstabilisation locale de la protéine mutante. La mutation L398P détruirait un réseau de liaison H dans un domaine riche en feuillet béta modifiant ainsi de façon importante la structure locale de la protéine. Des mutations de GFM1 ont été rarement rapportées et sont associées à des phénotypes cliniques différents. Après avoir modélisé la protéine EFG1 et localisé sur cette structure les différentes mutations rapportées ainsi que les nôtres nous suggérons que le phénotype clinique des patients pourrait être lié à la position des mutations au sein de la protéine.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P011 - IDENTIFICATION PAR SEQUENÇAGE « EXOME » DE MUTATIONS DU GENE MRPL3 DANS UNE FAMILLE DE CARDIOMYOPATHIE D'ORIGINE MITOCHONDRIALE

L Galmiche (1), V Serre (2), M Beinat (2), Z Assouline (3), AS Lebre (3), D Chretien (2), P Nietschke (4), V Benes (5), N Boddaert (6), D Sidi (7), F Brunelle (8), M Rio (6), A Munnich (6), A Rötig (2)

1. INSERM U781, Uiversité Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
2. INSERM U781, Université Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
3. Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
4. Plateforme Bioinformatique, Université Paris Descartes, PARIS, France
5. Genomics Core Facility, European Molecular Biology Laboratory, Heidelberg, Allemagne
6. Department of Genetics, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
7. Department of Pediatrics, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
8. Department of Pediatrics, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS 14, France

Nous avons réalisé un séquençage exome et une cartographie génétique dans une famille avec quatre enfants nés de parents non consanguins et présentant une cardiomyopathie, un retard mental et un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale. Ceci nous a permis d'identifier des mutations du gène MRPL3 codant pour une protéine de la grande sous-unité du ribosome mitochondrial. Une mutation faux sens du gène MRPL3, conduisant au changement P317R au niveau protéique est héritée de la mère et le père est porteur d'une grande délétion au locus de ce gène. Ces mutations conduisent à une déstabilisation du ribosome et à un déficit de synthèse des protéines codées par l'ADN mitochondrial dans les fibroblastes des patients. La conséquence au niveau de la chaîne respiratoire est un assemblage anormal des différents complexes révélé par gel natif. La traduction des protéines codées par l'ADNmt fait intervenir une machinerie spécifique qui compte au moins 150 protéines différentes ce qui rend difficile l'identification de mutations chez les patient. Ce travail montre l'intérêt de séquençage exome combiné à une approche de cartographie génétique pour identifier de nouveaux gènes de maladie mitochondriale dans des familles de petite taille.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P012 - MUTATION DU FACTEUR D'ELONGATION DE LA TRADUCTION MITOCHONDRIALE EFTS DANS UNE FAMILLE DE DEFAILLANCE HEPATIQUE SEVERE.

V Vedrenne (1), L Galmiche (2), D Chretien (1), P de Lonlay (3), A Munnich (3), A Rötig (1)
1. INSERM U781, Université Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
2. INSERM U781, Uiversité Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
3. Department of Genetics, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France

Les déficits multiples de la chaîne respiratoire représentent une cause fréquente de maladie mitochondriale et sont souvent associés à une défaillance hépatique. Nous avons diagnostiqué un déficit multiple de la chaîne respiratoire dans une famille multiplex et consanguine caractérisée par un retard de croissance intra-utérin, une acidose lactique néonatale et une insuffisance hépatique. Une cartographie par homozygotie au moyen de SNP (50K) a permis de détecter plusieurs régions d'homozygotie dans les quelles nous nous sommes intéressés aux gènes impliqués dans la traduction des protéines codées par l'ADN mitochondrial. Le séquençage du gène TSFM, codant pour le facteur d'élongation de la traduction mitochondriale EFTs, et compris dans une région d'homozygotie, a révélé l'existence d'une mutation homozygote chez les patients modifiant un résidu arginine très conservé en tryptophane (R312W). Cette mutation avait déjà été rapportée dans deux familles indépendantes avec deux présentations cliniques distinctes, une encéphalopathie mitochondriale fatale pour la première et une cardiomyopathie hypertrophique pour la seconde. La description d'un troisième syndrome associé à une même mutation de TSFM démontre une fois de plus la très grande hétérogénéité clinique et génétique des déficits de la traduction mitochondriale. De plus ces résultats suggèrent que les défauts de traduction mitochondriale représentent une cause de plus en plus fréquente de défaillance hépatique d'origine mitochondriale chez l'enfant.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P013 - ETUDE DES MUTATIONS DANS LE GENE DE L'HISTIDASE (HAL) CHEZ DES INDIVIDUS ATTEINTS D'HYPERHISTIDINEMIE AVEC OU SANS TROUBLES NEUROLOGIQUES

A PITON (1), C REDIN (1), F FEILLET (2), L FAIVRE (3), A MASUREL (3), C OTTOLENGHI (4), JL MANDEL (1)

1. Neurogénétique et médecine translationnelle, IGBMC, Strasbourg, France
2. Centre de Référence des Maladies Héréditaires du Métabolisme, CHU Brabois Enfant, Vandoeuvre les Nancy, France
3. Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon, France
4. Biochimie métabolique, Hôpital Necker, Paris, France

L'histidinémie est un trouble du métabolisme de l'histidine, touchant 1 personne sur 12 000-20 000 et transmise sur un mode autosomique récessif, dû à un déficit en histidase, l'enzyme transformant l'histidine en acide urocanique. Ce déficit enzymatique provoque une concentration très élevée d'histidine dans le sang et dans les urines. Des symptômes telles que la déficience intellectuelle, l'épilepsie, l'autisme, le retard de langage ou même l'ataxie ont été recensés chez des individus histidinémiques (Neville, 1972; Kotsopoulos, 1979; Brucman, 1970), mais le fait que de nombreux individus asymptomatiques aient été identifiés lors des programmes de dépistage néonatal a amené la communauté scientifique à considérer l'histidinémie comme une « non-maladie ». Toutefois, il n'a jamais été réellement tranché si les atteintes du système nerveux central observées chez certains patients était dues au hasard ou à une responsabilité de l'histidinémie (Widhalm K, 1994 ; Levy HL, 1995). En effet, certaines études ont montré qu'il n'y avait pas de corrélation entre l'histidinémie et une baisse de quotient intellectuel (Levy HM, 1974) mais une étude récente suggère que l'histidinémie pourrait être un facteur de risque pour l'autisme (Miyachi et al. 2009). Au niveau génétique, une seule étude a entrepris l'analyse de mutations dans le gène de l'histidase (HAL), localisé sur le chromosome 12q22-q24.1, chez des patients japonais (Kawai Y, 2005) et a décrit des mutations faux-sens (R322P, P259L, R206T, et R208L) dans un petit nombre de cas (5 sur 50 analysés) détectés par dépistage néonatal (ce faible rendement est probablement dû à la méthodologie utilisée). Nous avons séquencé le gène HAL chez 3 individus avec histidinémie et déficience intellectuelle et identifié pour chacun deux variants rares prédits pour altérer la fonction protéique (5 faux-sens et une altération d'un site donneur d'épissage au total). En parallèle, le séquençage d'un individu asymptomatique avec histidinémie a conduit à l'identification d'un variant, présent à l'état homozygote, mais prédit pour avoir peu de conséquence sur la protéine (SIFT, Polyphen2). Nous prévoyons d'étendre le séquençage de ce gène à d'autres individus avec histidinémie afin de pouvoir mieux comparer les mutations trouvées chez les patients présentant des atteintes au niveau du système nerveux central de ceux ne présentant aucun phénotype neurologique. Nous souhaitons ainsi analyser si cette différence clinique pourrait être due à une différence génétique au niveau de la sévérité des mutations touchant le gène HAL.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P014 - PATHOLOGIE BIOSTRUCTURALE DE LA RUPTURE DU PONT DISULFURE 225S-S282 DE LA PROTEINE HFE : LE CAS DU VARIANT P.ARG226GLY

C Cézard (1), G Le Gac (2), K Lassoued (3), C Férec (2), J Rochette (3)
1. CNRS UMR 6219, Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France
2. INSERM U 613, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France
3. INSERM UMR 925, Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France

L'hémochromatose HFE (HFE-HH) est une maladie génétique transmise sur le mode autosomique récessif.Elle est caractérisée par une surcharge en fer lente et progressive.La majorité des patients est homozygote pour la mutation p.Cys282Tyr.Le premier signe biologique détectable est une élévation du coefficient de saturation de la transferrine (Csat)suivie plus tardivement, d'une augmentation de la ferritine sérique.La mutation p.Cys282Tyr est responsable de l'impossibilité de former le pont disulfure 225S-S282.Cette mutation empêche la migration de la protéine HFE à la membrane externe des cellules où siège l'absorption du fer.Il n'existe aucune donnée dans la littérature qui permette d'expliquer les conséquences "biostructurales" générées par la perte de ce pont disulfure.
Chez un patient atteint d'une HFE-HH et hétérozygote pour la mutation p.Cys282Tyr au test génétique de première intention, nous avons mis en évidence une nouvelle mutation par séquençage du gène HFE.Nous avons identifié une seconde mutation en trans :p.Arg226Gly.Par dynamique
moléculaire en solvant explicite nous avons étudié la structure secondaire et tertiaire de ce mutant pour tenter d'expliquer l'absence d'adressage membranaire.
Les coordonnées physico-chimiques ont été obtenues de la structure 3D de la protéine sauvage à la résolution de 2.6 A.Toutes les simulations ont été effectuées avec le module SANDER du programme AMBER 10.Les énergies libres de solvatation ont été calculées par la méthode de Poisson-Boltzmann.La détection de l'hydrophobicité a été effectuée en utilisant le webserver: //Biophysics.cs.vt.edu/H++.
Les résultats montrent d'abord que le mutant p.Arg226Gly rend impossible la formation de la liaison 225S-S282 par effet "voisin" conduisant à une augmentation de la distance entre les deux atomes de soufre. La structure secondaire n'est que très modestement affectée par cette mutation mais des déformations mineures se propagent pour générer deux nouvelles poches hydrophobes.Ces régions hydrophobes modifient la distribution des ponts salins ainsi que l'énergie libre de solvatation en déstabilisant la structure 3D.Les mouvements se propagent au résidu Trp267, suggérant ici, l'origine des nouveaux paramètres d'hydrophobicité.L'ensemble des résultats obtenus permet de conclure à un phénomène d'agrégation des molécules déstabilisées par la mutation p.Arg226Gly.On comprend ainsi l'impossibilité pour le mutant de se déplacer vers la membrane.Parmi toutes les mutations responsables de maladies monogéniques, seulement 3% sont la conséquence d'une rupture de ponts disulfures mais il n'existe aucun exemple de ce type de mutation sans conséquence pathologique chez l'Homme. Ce nouveau variant est l'un des très rares exemples de rupture de pont disulfure sans substitution d'une cystéine.Cette observation suggère de séquencer en priorité le gène HFE chez un hétérozygote p.Cys282Tyr surchargé en fer avec Csat élevé,avant tout autre investigation moléculaire.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P015 - PREVALENCE DES GRANDS REARRANGEMENTS DU GENE MYBPC3 DANS LA CARDIOMYOPATHIE HYPERTROPHIQUE

P BOUVAGNET (1), V CHANAVAT (2), P CHEVALIER (3), G MILLAT (2), R ROUSSON (2), MF SERONDE (4)

1. Service de Cardiologie C, CHU Lyon, Hôpital L. Pradel, BRON, France
2. Laboratoire de Cardiogénétique Moléculaire, Centre de Biologie EST, CHU Lyon, BRON, France
3. Unité de Cardiologie et Soins Intensifs, Hôpital L. Pradel, CHU Lyon, BRON, France
4. Département de Cardiologie, Hôpital Universitaire Jean Minjoz, Besançon, France

La cardiomyopathie hypertrophique (CMH) se caractérise par une hypertrophie totale ou partielle du myocarde, le plus souvent asymétrique (à prédominance septale). Sa prévalence est de 1/500 dans la population générale. Cette cardiopathie, de transmission essentiellement autosomique dominante, est familiale dans plus de 60 % des cas et se caractérise par une pénétrance incomplète et une expressivité variable. Elle est principalement causée par des mutations affectant des gènes codant des protéines du sarcomère. A ce jour, plus de 25 gènes morbides sont impliqués dans cette pathologie et plus de 1000 mutations (essentiellement «privées») ont été rapportées dans la littérature. Des mutations affectant MYBPC3 et MYH7 sont retrouvées, respectivement, chez environ 35% et 30% des patients. Les gènes TNNT2 et TNNI3 sont les deux autres gènes les plus fréquemment mutés avec une prévalence légèrement supérieure à 2%. L'exploration moléculaire systématique de ces 4 gènes morbides ne permet d'identifier des mutations que chez, approximativement, 50 à 60 % des patients analysés. Par conséquent, l'anomalie moléculaire n'a pas pu être encore identifiée pour près d'un patient sur deux.

L'analyse du gène MYH7 montre que les mutations responsables de CMH sont quasi exclusivement faux-sens. Inversement, les mutations MYBPC3 sont constituées dans 70 % des cas de mutations créant des codons stop prématurés. Etant donné, à la fois, la nature des mutations MYBPC3 identifiées et la prévalence des mutations affectant ce gène, l'objectif de notre étude était de rechercher la présence de grands réarrrangements sur MYBPC3. Une analyse MLPA (kit SALSA P100-B1 MYBPC3) a été effectuée sur une cohorte de 100 patients atteints de CMH pour lesquels l'exploration moléculaire par HRM/séquençage des 4 gènes les plus prévalents s'était avérée négative. Cette stratégie a permis d'identifier un réarrangement chez un seul patient de notre cohorte. Des études complémentaires ont permis de mettre en évidence chez ce patient une délétion à l'état hétérozygote de 3505 pb (g.47309385_47312889del ou c.2905+280_*485del) causée par une recombinaison entre 2 séquences Alu localisées respectivement dans l'intron 27 et en aval de l'exon 35 du gène MYBPC3. Ce remaniement génique est le premier cas rapporté dans la littérature pour le gène MYBPC3.

Malgré la mise en évidence de cette délétion, nos résultats suggèrent que la fréquence de ce type d'événements moléculaires reste rare pour le gène MYBPC3, ou tout au moins, n'est pas supérieure à la prévalence de mutations affectant de nombreux autres gènes codants des protéines du sarcomère. L'identification des anomalies moléculaires responsables de CMH est cruciale pour mieux définir les corrélations phénotype/génotype et ainsi mieux appréhender la physiopathologie de cette maladie.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P016 - NEUF ANNEES D'EXPERIENCE DANS LE DIAGNOSTIC GENETIQUE DE L'ACRODERMATITE ENTEROPATHIQUE

F AIRAUD (1), S BEZIEAU (2), B DRENO (3), M GIRAUD (1), M KHARFI (4), S KÜRY (1), S SCHMITT (1), C TESSON (1)

1. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nants, France
3. Service de dermatologie, CHU de Nantes, Nantes, France
4. Service de dermatologie, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

Contexte: l'acrodermatite entéropathique (AE; MIM # 201100) est une forme héréditaire rare de déficit sévère en zinc, transmise selon un mode autosomique récessif. Elle se caractérise par trois symptômes pathognomoniques survenant à la naissance ou au sevrage: une dermatite acral et périorificielle, une alopécie et une diarrhée. En 2002, une équipe concurrente et nous-mêmes avons identifié le gène de l'AE, SLC39A4, dont les mutations induisent un transport intestinal du zinc défectueux. Depuis, notre laboratoire offre un test diagnostique de routine du gène SLC39A4 aux patients supposés présenter une AE.

But: Nous rapportons ici les résultats de neuf années de tests génétiques réalisés chez des patients de toutes nationalités diagnostiqués avec une AE. Nous présentons les principales difficultés inhérentes à la gestion d'une maladie rare, ainsi que les perspectives offertes par l'accroissement des connaissances sur le transport du zinc.

Méthode: En premier lieu, à partir de l'ADN génomique des patients, nous avons criblé les douze exons et sites d'épissage de SLC39A4 par séquençage Sanger et QMPSF, à la recherche d'éventuelles mutations germinales ou grands réarrangements. Puis nous avons examiné les anomalies des régions non traduites et introniques. Dans certains cas, nous avons également effectué l'analyse d'autres gènes candidats (SLC30A2, SLC39A5, SLC304A4 ou BTD).

Résultats: Jusqu'à présent, nous avons testé 200 échantillons d'ADN, comprenant 97 cas index. Douze analyses sont en cours ou ont été suspendues en l'absence d'un consentement éclairé signé. Parmi les 85 résultats validés, nous avons retrouvé une mutation ou un variant très probablement délétère chez 41 patients : 34/85 (40%) patients ont été trouvés homozygotes ou hétérozygotes composites, tandis que 7/85 (8,2%) patients ont été trouvés hétérozygotes seulement. Chez 44/85 (51,8%) patients nous n'avons identifié aucune mutation ; une partie de ces résultats négatifs pourrait s'expliquer par une erreur diagnostique et une partie autre correspond probablement à une acrodermatite acquise, mais pour la majorité des cas, l'influence d'un facteur génétique ne peut être définitivement écartée.

Conclusions: la base génétique de l'AE n'est pas totalement élucidée, car le mode autosomique récessif est remis en question par l'analyse de ségrégation dans certaines familles. En outre, l'observation de cas très suggestifs d'AE sans mutation identifiée dans SLC39A4 étaye l'hypothèse de facteurs régulation et/ou d'autres gènes qui seraient impliqués dans le mécanisme pathogénique de l'AE. Au bout du compte, nous envisageons une stratégie de séquençage d'exome de l'ensemble des gènes qui participent au métabolisme du zinc.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P017 - DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA TYROSINEMIE HEREDITAIRE DE TYPE 1 EN FRANCE: SPECTRE ET FREQUENCE DES MUTATIONS IDENTIFIEES SUR LE GENE FAH

A SPRAUL (1), D HABES (2), K MENTION (3), D LAMIREAU (4), V VALAYANNOPOULOS (5), M BARTH (6), F FEILLET (7), E GONZALES (2), M SCHIFF (8)

1. Biochimie, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
2. Hépatologie Pédiatrique, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
3. Centre de Référence des Maladies Héréditaires du Métabolisme, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
4. Maladies métaboliques, Hôpital Pellegrin-Enfants, Bordeaux, France
5. Centre de Référence des Maladies Métaboliques, Hôpital Necker, Paris, France
6. Service de génétique, CHU d'Angers, Angers, France
7. Centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme, CHU Brabois Enfant, Vandoeuvre les Nancy, France
8. Centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme, Hôpital Robert Debré, Paris, France

La tyrosinémie héréditaire de type I (HT1) est une maladie autosomique récessive due à un déficit de la fumarylacétoacétate hydrolase (FAH), enzyme impliquée dans la voie du catabolisme de la tyrosine.

L'HT1 se manifeste par une hépatopathie sévère, une atteinte tubulaire rénale, des crises neurologiques et constitue un facteur de risque majeur d'hépatocarcinome. L'évolution spontanée est létale. Le traitement diététique limitant les apports de phénylalanine et de tyrosine, ne permet pas d'éviter la transplantation hépatique. Depuis les années 1990, ce régime est associé à un traitement pharmacologique spécifique par le NTBC (nitisone) qui permet d'éviter l'accumulation de métabolites toxiques mais certains patients échappent à ce traitement et développent un hépatocarcinome.

Actuellement en France, le diagnostic est biochimique. Il repose sur l'identification de succinylacétone (SA), métabolite du fumarylacétoacétate, dans les urines. Dans certains cas l'étude de l'activité de la FAH sur lymphocytes ou fibroblastes peut être nécessaire pour affirmer le diagnostic. Le diagnostic moléculaire permettrait d'établir un diagnostic formel.

Patients et Méthodes : Le séquençage des exons et des jonctions intron-exon du gène FAH a été réalisé chez 33 enfants atteints de HT1 dont le diagnostic a été établi par une élimination urinaire de SA. Résultats : L'étude moléculaire du gène FAH a permis l'identification de 23 mutations différentes dont 9 déjà décrites et 14 nouvelles. Six mutations affectent l'épissage dont une (c.554-1G>T) est retrouvée avec une fréquence allélique de 53%. Les treize mutations faux sens, (dont 9 nouvelles) affectent toutes des nucléotides et acides aminés très conservés et sont considérées comme délétères par les prédictions in silico. Trois mutations non sens et une délétion conduisent à des protéines tronquées. Un déficit bi-allélique confirmant le diagnostic a été retrouvé chez 94% des patients atteints mais le déficit moléculaire n'a été identifié que sur un seul allèle chez 6% des patients étudiés.

Conclusion : Le diagnostic moléculaire de la HT1, maintenant disponible en France, permet de réaliser un diagnostic précis, de proposer un diagnostic prénatal moléculaire dans les familles à risque et devrait permettre d'établir des corrélations génotype-phénotype.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P018 - SHORT STATURE AND MUTATIONS IN THE GHRELIN RECEPTOR (GHSR) GENE

M Legendre (1), J Pantel (2), C Lazea (3), S Cabrol (4), N Collot (5), F Dastot (5), P Duquesnoy (2), L Hilal (6), A Kadiri (7), C Dupuis (8), S Nivot (9), S Rose (5), A Rothenbuhler (10), ML Sobrier (2), MP Vie-Luton (2), Y Le Bouc (4), M Polak (11), J Léger (12), S Amselem (1)

1. UPMC Univ Paris 06, Inserm UMR_S933 et AP-HP, U.F. de Génétique clinique et moléculaire, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Inserm, UMR_S933, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Pediatria, Clinica Pediatrie I, Cluj-Napoca, Roumanie
4. U.F. d'Explorations fonctionnelles endocriniennes, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France
5. U.F. de Génétique clinique et moléculaire, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France
6. Laboratoire de Génétique et Biologie moléculaire, Faculté des Sciences, Kenitra, Maroc
7. Service d'Endocrinologie, CHU Ibn Sina, Rabat, France
8. Département de Pédiatrie, CHU de Grenoble, Grenoble, France
9. Service de Pédiatrie A, CHU de Caen, Caen, France
10. Service d'Endocrinologie pédiatrique, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
11. Service d'Endocrinologie pédiatrique, AP-HP, Hôpital Necker, Paris, France
12. Service d'Endocrinologie pédiatrique, AP-HP, Hôpital Robert-Debré, Paris, France

Ghrelin, a ligand of the growth hormone (GH) secretagogue receptor (GHSR), is mainly known as the sole orexigenic hormone and as a strong stimulator of GH secretion. Surprisingly, murine models in which the ghrelin axis - i.e. ghrelin or its receptor – is disrupted do not show a pronounced lean and short phenotype, but mainly display subtle changes in glucose and lipid metabolism. So far, very few GHSR mutations have been implicated in short stature with or without altered GH secretion tests.

The objective if this study is (i) to further test the contribution of GHSR to isolated GH deficit (IGHD) and idiopathic short stature (ISS) and (ii) to provide a most complete description of the phenotype associated with each GHSR variation.

We screened the GHSR in 290 independent children with ISS or IGHD. We assessed the phenotype (height, weight, somatotrope investigation) of subjects carrying a GHSR variation. Constitutive activity and ghrelin response of the new variants were assessed through a Luciferase reporter gene assay (pSRE plasmid) in HEK 293 cells. Cell surface expression of the variants was assessed by means of an ELISA assay on whole HEK 293 cells.

Eight molecular defects were identified in eight independent families: in addition to three previously described mutations (p.A204E, p.W2X and p.R237W), we found five novel variations (c.370delG, p.L42V, p.F111C, p.V216A, p.L311F) in the heterozygous state in five independent probands presenting with ISS (n=1) or IGHD (n=4). The p.F111C and c.370delG variants showed impaired constitutive and ghrelin-induced signaling. This impairment was proportionate to the decrease in cell-surface expression. Signal transduction assessment showed that p.L42V, p.V216A and p.L311F are probably benign polymorphisms. Except for p.W2X and p.R237W, short stature was transmitted in a dominant manner with incomplete penetrance (10/21, 52%). Variable expressivity of the disease phenotype was noticed.

This study, which strengthens the importance of GHSR constitutive activity in human growth, shows that GHSR mutations are responsible for at most 1.7% of short stature in humans and 2.6% of isolated GH deficits (independent cases).

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P019 - CONTRIBUTION OF GH AND GHRHR MUTATIONS TO ISOLATED GROWTH HORMONE DEFICIENCY – IDENTIFICATION AND FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF NEW VARIANTS

M Legendre (1), ML Sobrier (2), F Dastot (3), N Collot (3), S Rose (3), A Soleyan (3), P Duquesnoy (2), B Copin (3), S Amselem (1)

1. UPMC Univ Paris 06, Inserm UMR_S933 et AP-HP, U.F. de Génétique clinique et moléculaire, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Inserm, UMR_S933, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. U.F. de Génétique clinique et moléculaire, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France

Growth is a complex phenomenon that depends on several factors including growth hormone (GH), the GH releasing hormone (GHRH) and its receptor (GHRHR). Although GH and GHRHR have been recognized as key etiologic factors in non-syndromic forms of isolated growth hormone deficiency (IGHD), a small number of mutations have been identified in this rare condition. Depending on studies, GH and GHRHR defects would account for 6-12.5% and 0-6.7% of IGHD cases. So far, very few functional studies have been performed in order to assess the consequences of the identified variants.

With the aim to assess the contribution of the GH and GHRHR genes in the pathogenesis of IGHD, we first screened for mutations all coding exons and flanking intronic sequences of these two genes in a large cohort of patients presenting with a non-syndromic form of IGHD characterized by a small or normal anterior pituitary associated with a normal posterior pituitary.

The GH gene was analyzed in a total of 191 independent patients. Mutations were identified in 28 patients (15%), 12 of them (12/191, 6%) representing familial forms of IGHD. These include 7 novel mutations, among which 1 frameshift mutation, 1 splicing defect and 5 missense mutations.

The GHRHR gene was subsequently analyzed in the remaining 144 independent patients in whom no GH defect was identified and for whom DNA was available. This led to the identification of mutations in 22 patients (15%), 7 of them (7/144, 5%) representing familial cases. The GHRHR mutation spectrum consists of 6 truncating mutations, 4 frameshift defects, 2 splicing defects and 10 missense mutations, among which 13 mutations are novel. In vitro functional studies of various missense mutations were performed in order to assess the GHRH response through a CRE-dependent Luciferase assay. All the missense variations located in the mature protein showed an impaired function (p value below 0.05).

Taken together, this study performed in a large cohort of patients, which identifies molecular defects in the GH or GHRHR gene in 50 out of 191 independent patients (27%), reveals the importance of those genes in the pathogenesis of non-syndromic IGHD with a normal location of the posterior pituitary. Noteworthy, 62% (31/50) of the patients with a GH or GHRHR defect represent sporadic cases.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P020 - ESTIMATION DE LA PREVALENCE DE LA MUTATION P.G352FSDELG DU GENE PAH DE LA PHENYLCETONURIE DANS LA POPULATION MAROCAINE

A Lamzouri (1), I Ratbi (2), FZ Laarabi (3), A Barkat (4), A Sefiani (2)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, rabat, Maroc
2. Centre de Génomique Humaine,, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, rabat, Maroc
3. département de génétique, Institut National d'Hygiène, rabat, Maroc
4. Centre National de Référence, en Néonatologie et en Nutrition, rabat, Maroc

Introduction : La mutation frameshift p.G352fsdelG du gène PAH en 12q24.1 a récemment été rapporté par Dahiri et al. (2010) comme étant la mutation la plus fréquente chez les patients marocains atteints de phénylcétonurie (62,5% des chromosomes mutés). Ce résultat, s'il se confirme, pourrait considérablement faciliter le diagnostic moléculaire et le conseil génétique de la phénylcétonurie au Maroc ou il n'existe pas de programme national de dépistage néonatal de cette maladie. En considérant que la prévalence de cette maladie au Maroc est au moins de 1/10000 (comme chez les caucasiens), la fréquence des hétérozygotes pour la mutation p.G352fsdelG devrait être au moins de 1/70. Avant de proposer la recherche de cette mutation comme test moléculaire de première intention chez les patients phénylcétonuriques marocains, nous avons voulu estimer la fréquence des hétérozygotes pour la mutation p.G352fsdelG et en déduire la prévalence de la maladie liée à cette mutation chez les marocains par une approche d'épidémiologie moléculaire.

Matériel et méthodes: Dans cette étude, nous avons recherché la mutation p.G352fsdelG du gène PAH dans le sang du cordon de 250 nouveau-nés marocains non apparentés par PCR en temps réel.

Résultats : La mutation p.G352fsdelG, supposée récurrente chez les patients marocains, n'a été retrouvée chez aucun nouveau-né parmi les 250 testés. Il en résulte que la fréquence des hétérozygotes pour la mutation p.G352fsdelGest inférieure à 1/250, et que la prévalence des patients homozygotes pour cette mutation ne devrait pas dépasser 1/100 000.

Conclusion: La mutation p.G352fsdelG du gène PAH ne semble par être prévalente dans la population marocaine, et serait responsable uniquement de quelques cas de phénylcétonurie. L'étude antérieure qui rapporte cette mutation comme étant responsable de 62,5% des cas de phénylcétonurie au Maroc s'expliquerait probablement par un biais de sélection.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P021 - DOMAINE BASIC DE MITF : VARIATIONS GENOTYPIQUES ET PHENOTYPIQUES DANS LE SYNDROME DE TIETZ ET LE SYNDROME DE WAARDENBURG

S Léger (1), X Balguerie (1), A Goldenberg (2), V Drouin-Garraud (3), A Cabot (4), I Amstutz-Montadert (5), P Young (6), P Joly (7), V Bodereau (8), M Holder-Espinasse (9), RV Jamieson (10), A Krause (11), H Chen (12), C Baumann (13), L Nunes (14), H Dollfus (15), M Goossens (16), V Pingault (17)

1. Clinique Dermatologique, INSERM U905, Hôpital Universitaire de Rouen, Rouen, France
2. Génétique clinique, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
3. Génétique Clinique, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
4. Ophtalmologie, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
5. Oto-Rhino-Laryngologie, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
6. Cabinet privé, Dermatologie, Rouen, France
7. Clinique Dermatologique, INSERM U905, Hôpital universitaire de Rouen, Rouen, France
8. Biochimie et Génétique, Hôpital H. Mondor, Créteil, France
9. Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
10. Eye Genetics Research Group, The Children's Hospital at Westmead, Sidney, Australie
11. Human Genetics, University of the Witwatersrand, Johannesburg, Afrique du sud
12. Otolaryngology, Xiangya Hospital, Changsha, Chine
13. Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
14. Genética Médica, Hospital de Dona Estefania, Lisboa, Portugal
15. Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
16. Biochimie et Génétique, Hopital H. Mondor, Créteil, France
17. Biochimie et Génétique, INSERM U955, Hôpital H. Mondor, Créteil, France

MITF (MIcrophthalmia-associated Transcription Factor) est un facteur de transcription de type basic helix-loop-helix leucine zipper qui régule le développement mélanocytaire et la biosynthèse de mélanine. Son domaine basic est nécessaire pour reconnaître et lier l'ADN de ses cibles transcriptionnelles. Les mutations de MITF expliquent environ 15% des cas de WS2 (syndrome de Waardenburg de type II), caractérisé par une surdité associée à des anomalies de pigmentation : taches cutanées dépigmentées, hétérochromie irienne, mèches blanches, blanchiment prématuré… Le syndrome de Tietz est décrit comme une condition allélique plus sévère : hypopigmentation généralisée, albinoid-like, et surdité sévère. Il est dû à des mutations non tronquantes du domaine basic (faux-sens ou délétion en phase d'un acide aminé). Très peu de cas sont cependant publiés, ce qui limite les généralisations.

A partir d'une grande famille où 6 patients présentent un phénotype inhabituel, nous avons repris l'étude et la description de toutes les mutations altérant spécifiquement le domaine basic sans tronquer la protéine, mises en évidence ces dernières années au laboratoire de Génétique de l'hôpital Henri Mondor, ainsi que les cas déjà publiés (les données cliniques ont été complétées pour plusieurs patients), soit un total de 15 cas indépendants.

Les conclusions de cette étude sont les suivantes :

-Si les mutations du domaine basic peuvent en effet entraîner un syndrome de Tietz, la corrélation n'est pas parfaite, plusieurs de ces patients ayant un diagnostic de WS2 ;

-Dans le cas de deux mutations récurrentes, il est intéressant d'observer que les deux diagnostics sont possibles : une variabilité phénotypique qui montre que la corrélation génotype/phénotype n'est pas absolue.

-Plutôt que deux syndromes bien séparés, on peut observer tout le spectre d'association phénotypique possible entre Tietz et Waardenburg. On peut d'ailleurs voir une hypopigmentation cutanée généralisée et une dépigmentation en tache chez le même patient.

-Parmi les résultats inattendus, nous avons trouvé : i) des anomalies oculaires altérant la vision, et jusqu'à présent non décrites dans le syndrome de Waardenburg ; ii) une fréquence élevée de patients constellés de taches de rousseur, lesquelles sont retrouvées sur la peau normalement pigmentée ou hypopigmentée (de type Tietz) mais pas dans les zones dépigmentées (de type Waardenburg). Elles semblent plus fréquentes chez les patients d'origine asiatique.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P022 - ANALYSES MOLECULAIRES DES GENES DE LA PARKINE, PINK1, DJ-1 ET DE LA MUTATION G2019S DE LRRK2 DANS LES FAMILLES EUROPEENNES ET NORD-AFRICAINES ATTEINTES DE LA MALADIE DE PARKINSON

S Lesage (1), A Honoré (2), C Condroyer (2), M Anheim (3), S Klebe (4), E Lohmann (3), C Cazeneuve (5), A Dürr (5), A Brice (5)

1. INSERM UMR S_975, Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Paris, France
2. INSERM UMR_S975, Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Paris, France
3. INSERM UMR_S975, AP-HP, hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. INSERM CIC-9503, AP-HP, hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Département de Génétique et Cytogénétique, AP-HP, hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

INTRODUCTION: La maladie de Parkinson (MP) est une maladie neurodégénérative fréquente, due à une perte des neurones dopaminergiques de la substance noire. Trois gènes sont responsables des formes autosomiques récessives de MP, à début précoce: Parkine, PINK1 et DJ-1. Bien que la mutation fréquente G2019S de LRRK2 soit initialement associée aux formes autosomiques dominantes de MP, elle est aussi retrouvée dans des proportions non négligeables dans les formes «apparemment» récessives et sporadiques de la maladie.

BUT DU TRAVAIL: Estimer la fréquence relative des gènes Parkine, PINK1, DJ-1 et de la mutation G2019S de LRRK2 dans une grande série de 875 familles avec MP.

PATIENTS ET METHODES: Nous avons sélectionné une série de 347 probands provenant de formes familiales avec une transmission autosomique récessive et 528 cas sporadiques. Ces familles et cas isolés viennent d'Europe, surtout de France (n=733), d'Afrique du Nord (n=112) ou d'autres origines (n=30). Tous les probands ont été criblés pour les gènes de la Parkine, PINK1, DJ-1 et la mutation G2019S de LRRK2, par séquençage direct et dosage d'exons par PCR multiplex semi-quantitative ou utilisation du kit MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification). Dans cette étude, seuls les patients avec 2 mutations dans les gènes de la Parkine, PINK1, DJ-1 ont été pris en compte, à l'exception de G2019S de LRRK2. Les analyses de ségrégation des mutations identifiées sont réalisées à partir des apparentés sains et atteints disponibles. Les proportions des patients avec 2 mutations de la Parkine en fonction de leur âge de début de la maladie sont analysées chez 933 patients avec MP.

RESULTATS: Nous avons identifié 95 cas index avec MP porteurs de 2 mutations de la Parkine, représentant une fréquence relative de 11% (19% dans les formes familiales et 5% chez les cas sporadiques). Les proportions des patients avec 2 mutations de la Parkine diminuent dramatiquement lorsque l'âge de début de la maladie augmente (56% dans les formes récessives et 26% chez les cas sporadiques avant l'âge de 20 ans et ~7% après 60 ans dans les 2 groupes). Les mutations dans PINK1 sont retrouvées chez 9 probands (1,6%), alors qu'un seul cas isolé est rapporté avec 2 mutations dans DJ-1. En revanche, la mutation G2019S de LRRK2 représente 5% des formes familiales avec MP et 3% chez les cas sporadiques.

CONCLUSION: Les mutations de la Parkine représentent la cause génétique la plus fréquente de MP en France et en Afrique du Nord, en particulier dans les formes précoces de la maladie. Bien que LRRK2 soit connu comme un gène responsable des formes dominantes de MP, il joue aussi un rôle important dans les formes récessives. En revanche, PINK1 et DJ-1 sont plus faiblement impliqués. L'analyse à grande échelle des formes familiales et sporadiques des gènes «récessifs» et de la mutation G2019S de LRRK2 est d'une grande importance pour le diagnostic moléculaire, afin de prioriser les gènes les plus fréquents à tester.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P023 - SPECTRE CLINIQUE ET MUTATIONNEL DE LA GLYCOGENOSE CARDIAQUE ASSOCIEE AUX MUTATIONS DU GENE PRKAG2

J Thevenon (1), P Charron (2), A Milaire (3), M Desnos (4), D Duboc (5), JC Eicher (6), E Bieth (7), E Gautier (8), P Bouvagnet (9), X Jeunemaitre (10), C Bonithon-Kopp (11), C Binquet (12), S Kacet (13), D Klug (13), P Laforet (14), G Laurent (15), L Martin (16), F Picard (17), P Réant (17), JE Wolff (15), C Thauvin-Robinet (18), L Faivre (19), P Richard (20)

1. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France
2. AP-HP, Département de Génétique, Centre de référence des maladies cardiaques héréditaires, UPMC Université, Paris, France
3. Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France 3 Hôpital Cardiologique, CHRU de Lille, Lille, France
4. Département de cardiologie, hôpital européen Georges-Pompidou, Assistance publique-Hôpitaux de Paris,, HEGP, paris, France
5. Service de Cardiologie, Hôpital Cochin, Paris, France
6. Centre de Cardiologie Clinique et Interventionnelle,, Centre Hospitalo-Universitaire de Dijon, Dijon, France
7. Hôpital Purpan, Department of Medical Genetics, Hopital Purpan, Toulouse, France
8. Centre d'investigation clinique –épidémiologie clinique/essais cliniques, CHU, Dijon, France
9. Laboratoire Cardiogénétique, Groupe Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
10. INSERM, UMRS_970, Paris Cardiovascular Research Center, HEGP, Paris, France
11/12. Centre d'investigation clinique –épidémiologie clinique/essais cliniques, CHU, Dijon, CHU, Dijon, Dijon, France
13. Hôpital Cardiologique, CHRU de Lille, Lille, France
14. APHP, Institut de Myologie, Service de Neurologie, Bâtiment Babinski, Groupe Hospitalier la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
15. Centre de Cardiologie Clinique et Interventionnelle, Hôpital du Bocage, Centre Hospitalo-Universitaire de Dijon, Dijon, France
16. Laboratoire d'anatomopathologie, Plateau technique de Biologie, CHU de Dijon, Dijon, France
17. 12 Department of Surgical Cardiology, Haut Leveque Hospital, Pessac, France
18/19. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, CHU de Dijon, Dijon, France
20. APHP, UF Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie Métabolique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Les mutations de PRKAG2, le gène codant pour la sous-unité γ2 de la protéine kinase AMP-5'(AMPK), sont responsables d'une glycogénose musculaire de transmission dominante autosomique avec une présentation cardiaque. Dans cette pathologie, une pré-excitation ventriculaire et un blocage progressif de la conduction cardiaque sont fréquemment accompagnés d'une cardiomyopathie hypertrophique, entrainant un fort risque de mort subite. Les données cliniques disponibles sur le diagnostic et l'évolution de cette pathologie restent incomplètes et sont basés sur les descriptions de larges familles porteuses. Les études réalisées ne rendent pas compte du risque de développer les manifestations à un certain âge ni de la survie des patients. Enfin, aucune étude n'a été réalisée concernant les corrélations génotype-phénotype. Les données cliniques et moléculaires de 34 patients à partir de 9 familles ont été recueillies à partir d'une cohorte de 140 patients testés dans le laboratoire de référence français pour le dépistage moléculaire de PRKAG2 depuis 2001 pour des indications diverses. Le rendement diagnostic a varié, allant de 0% lorsque l'indication était une cardiomyopathie hypertrophique isolée à 20% en présence de pré-excitation ventriculaire. Parmi les six mutations différentes, cinq étaient non décrites auparavant et les autres patients portaient la mutation récurrente p.Arg302Gln (62% de la cohorte). Dans la cohorte totale, la probabilité de développer à 40 ans une pré-excitation ventriculaire était de 70% (99%-CI: 50% -87%) et une cardiomyopathie hypertrophique de 61% (99%-CI: 41% -81%). La survie globale à 60 ans était de 66% (99%-CI: 8% -61%). La probabilité de présenter une complication de type trouble de conduction, mort subite, implantation de défibrillateur ou transplantation cardiaque à 40 ans était de 31% (99%-CI:16%-53%). 32% des patients ont nécessité une implantation de défibrillateur à un âge médian de 66 ans et 2 transplantations cardiaques ont été nécessaires à 55 et 60 ans. Nous recherché des corrélations génotype-phénotype entre la mutation récurrente

p.Arg302Gln et les autres mutations. Il n'y avait aucune différence significative entre les groupes pour la présence d'une pré-excitation ventriculaire, la survie globale ou la survenue de complications. Une tendance vers un moindre risque de développer une cardiomyopathie hypertrophique a été trouvée chez les patients présentant la mutation p.Arg302Gln. Les manifestations extracardiaques étaient rares (1 patient avec une présentation musculo-squelettiques et 3 patients avec légère intolérance à l'effort).
Le dépistage de mutations de PRKAG2 doit être indiqué devant la présence de pré-excitation ventriculaire avec ou sans cardiomyopathie hypertrophique. La confirmation d'une mutation PRKAG2 devrait conduire à un suivi cardiaque spécifique et d'une discussion d'implantation de défibrillateur en raison du risque élevé de mort subite d'origine cardiaque, indépendamment du type de mutation.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P024 - BIOCHEMICAL MANAGEMENT IN HEPATORENAL TYROSINEMIA : A REPORT OF EIGHTEEN CASES IN ALGERIAN CHILDREN

A BERHOUNE (1), S BRAHIMI (1), N GAGI (1), L Yargui (1)
1. Laboratoire Central de Biochimie, CHU Mustapha, Alger, Algérie

Hepatorenal Tyrosinemia (TH1) is an autosomal recessive inborn disease caused by deficiency of fumarylacetoacetate hydrolase, which is the last enzyme in the tyrosine degradation.
This disorder is clinically severe and affects liver, kidney, and peripheral nerve. Hepatocarcinoma is usually a long term complication.
TH1 was diagnosed in 18 cases (ages 4-36 months) on screening 1268 children for aminoacidopathies, between December 2009 and June 2011.
The commonest presenting features were hepatomegaly (37%) and cholestasis (35%). Other features included, hepatic failure (20%), rickets (3%), acute porphyria (3%) and renal manifestations (2%.
Diagnosis was confirmed by an elevated serum tyrosine and urine succinylacétone levels. Other investigations revealed mildly deranged liver functions and a markedly raised alpha feto protein. 8 tyrosinemic infants were treated with nitisinone plus diet restricted in tyrosine.
We report the biochemical findings and the results of one year follow-up in tyrosinemic patients, in our laboratory.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P025 - CCDC39 AND CCDC40 MUTATION SPECTRUM IN PRIMARY CILIARY DYSKINESIA – PHENOTYPE: GENOTYPE CORRELATION

M Legendre (1), S Blanchon (1), B Copin (2), P Duquesnoy (3), G Montantin (4), E Kott (5), L Jeanson (1), F Dastot (2), M Cachado (6), A Rousseau (6), JF Papon (7), A Coste (7), D Escalier (1), J de Blic (8), A Clément (9), E Escudier (1), S Amselem (1)

1. UPMC Univ Paris 06, Inserm UMR_S933 et AP-HP, U.F. de Génétique clinique et moléculaire, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. U.F. de Génétique clinique et moléculaire, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Inserm, UMR_S933, Hôpital Trousseau, Paris, France
4. U.F. de Génétique clinique et moléculaire, APHP, Hôpital Trousseau, Paris, France
5. Inserm UMR_S933, Hôpital Trousseau, Paris, France
6. AP-HP, Unité de Recherche clinique, UPMC Univ Paris 06 et Unité fonctionnelle de Pharmacologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France
7. UPEC Univ Paris12, Inserm U955, AP-HP, Hôpital Henri Mondor et CHIC, Service d'ORL, Hôpital Henri Mondor et CHIC, Créteil, France
8. Service de pneumologie, AP-HP, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
9. Service de Pneumologie et Centre de Référence des Maladies Respiratoires Rares, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France

Background and objectives: The CCDC39 and CCDC40 genes have recently been implicated in primary ciliary dyskinesia with inner dynein arms defects and axonemal disorganization. With the aim to guide the molecular analyses, we screened a cohort of patients with inner dynein arms defects for CCDC39 and CCDC40 mutations and compared the thoroughly described phenotype between patients with identified CCDC39 or CCDC40 mutations.

Methods: All CCDC39 and CCDC40 exons and intronic boundaries were sequenced in 43 patients. We recorded and compared clinical features (sex, origin, consanguinity, laterality defects, ages at first symptoms and evaluation, neonatal respiratory distress, airway infections, nasal polyposis, otitis media, bronchiectasis and hypofertility), ciliary beat frequency and quantitative ultrastructural analyses of cilia and sperm flagella.

Results: Biallelic CCDC39 or CCDC40 mutations were identified in 30/34 (88.2%) unrelated families with inner dynein arms defects and axonemal disorganization (22 or 8 families, respectively). 14/28 identified mutations are novel. No mutation was found in the 6 families with isolated inner dynein arms defect. There was no significant difference in clinical and ciliary phenotypes according to genotype. The sperm flagellar ultrastructure, analyzed in 4/7 infertile males, evidenced abnormalities similar to the ciliary ones.

Conclusion: CCDC39 and CCDC40 mutations represent the major cause (88.2%) of primary ciliary dyskinesia with inner dynein arms defects and axonemal disorganization. Patients carrying CCDC39 or CCDC40 mutations display a phenotype that is indistinguishable in terms of both clinical and ciliary features. CCDC39 and CCDC40 analyses in selected patients ensure to find mutations with high probability, even if clinical or ciliary phenotypes cannot prioritize one analysis over the other.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P026 - ETUDE DE L'IMPLICATION DU GENE NHS DANS LES CATARACTES CONGENITALES ISOLEES

T Habay (1), F Laumonnier (2), A Paubel (3), B Dessay (4), E Lala (5), S Majzoub (5), C Speeg-Spatz (6), P Dureau (7), E Laumonier (6), PS Jouk (8), L Faivre (9), J Kaplan (10), B Gilbert (11), N Philip (12), PJ Pisella (5), A Toutain (13)

1. INSERM U930, Service d'Ophtalmologie, CHU Bretonneau, Faculté de Médecine, Université François Rabelais, Tours, France
2. INSERM U930, Service de Génétique, CHU Bretonneau, Faculté de Médecine, Université François Rabelais, Tours, France
3. Service de Génétique, INSERM U930, Faculté de Médecine, Université François Rabelais, CHU Bretonneau, Tours, France
4. Service de Génétique, CHU Bretonneau, Tours, France
5. Service d'Ophtalmologie, CHU Bretonneau, Tours, France
6. Service d'Ophtalmologie, Nouvel Hôpital civil, CHU, Strasbourg, France
7. Service d'Ophtalmologie, Fondation Rothschild, Paris, France
8. Service de Génétique, Hôpital Nord, CHU, Grenoble, France
9. Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU, Dijon, France
10. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, CHU, Paris, France
11. Service de Génétique, Hôpital Jean Bernard, CHU, Poitiers, France
12. Service de Génétique, Hôpital de la Timone, CHU, Marseille, France
13. INSERM U930, Faculté de Médecine, Université François Rabelais, Service de Génétique, CHU Bretonneau, Tours, France

Les cataractes congénitales sont une cause fréquente de cécité de l'enfant. Près d'une anomalie congénitale du cristallin sur deux est liée à une altération protéique d'origine génétique. De nombreux gènes ont été identifiés dans les cataractes d'origine génétique, avec une transmission autosomique dominante plus souvent que récessive autosomique ou liée à l'X. Des mutations du gène NHS, localisé sur le chromosome X, sont à l'origine du syndrome de Nance-Horan associant cataracte congénitale, anomalies dentaires, dysmorphie faciale et parfois déficience intellectuelle. Dans ce syndrome les mutations sont en général des mutations tronquantes aboutissant à une absence de synthèse protéique. L'existence d'une forme apparemment non syndromique de cataracte dont le gène est localisé dans la même région que le gène NHS a soulevé la question de l'existence d'autres types mutations de ce gène (anomalies du nombre de copies, mutations faux sens) qui pourraient être à l'origine de cataractes congénitales isolées.

Pour tenter de répondre à cette question nous avons séquencé les 11 exons du gène NHS et les régions introniques adjacentes, et analysé par PCR semi-quantitative le nombre de copies du gène NHS sur l'ADN génomique d'une série de 30 patients atteints de cataracte congénitale, recrutés dans plusieurs centres. Les critères d'inclusion étaient la présence d'une cataracte touchant le noyau foetal ou la suture postérieure en Y, non syndromique, sporadique ou familiale à condition que la transmission soit compatible avec une liaison au chromosome X.

Nous présentons ici les résultats préliminaires de ce travail. Une mutation ponctuelle du gène NHS a été identifiée chez 6 patients : une mutation faux-sens et une mutation frameshift dans l'exon 1, une substitution dans l'intron 3 juste en amont de l'exon 3a (à proximité d'une anomalie déjà décrite dans le syndrome de Nance-Horan), une mutation faux-sens dans l'exon 6 à l'état hétérozygote (déjà rapportée par une équipe tunisienne) et 2 mutations frameshift dans l'exon 6. Nous avons également pu identifier 4 polymorphismes chez différents patients. Nous n'avons identifié aucune anomalie du nombre de copies à ce jour.

Des études fonctionnelles devront être faites pour évaluer la pathogénicité des mutations faux-sens mais le caractère pathogène est établi pour les mutations frameshift et la mutation déjà publiée. Par ailleurs, pour beaucoup des patients mutés, il n'est pas possible compte tenu de leur jeune âge d'exclure qu'ils soient en fait atteints d'un syndrome de Nance-Horan. Néanmoins ce chiffre élevé de 20% de mutations du gène NHS pourrait suggérer soit que le syndrome de Nance-Horan est sous-diagnostiqué et a une fréquence plus élevée qu'il n'est couramment

admis, soit que le gène NHS est fréquemment impliqué dans les cataractes congénitales non syndromiques.
Une étude sur un plus grand nombre de patients est nécessaire pour étayer ces résultats préliminaires.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P027 - SYNDROME DE PITT HOPKINS : SCORE DIAGNOSTIQUE ET STRATEGIE D'ANALYSE MOLECULAIRE DU GENE TCF4

S Whalen (1), D Héron (2), T Gaillon (3), O Moldovan (4), M Rossi (5), F Devillard (6), F Giuliano (7), G Soares (8), M Mathieu-Dramard (9), A Afenjar (10), P Charles (1), C Mignot (1), L Burglen (11), L Van Maldergem (12), J Piard (12), S Aftimos (13), G Mancini (14), P Dias (4), N Philip (15), A Goldenberg (16), M Le Merrer (17), M Rio (18), D Josifova (19), JM Van Hagen (20), D Lacombe (21), P Edery (5), S Dupuis-Girod (5), A Putoux (5), D Sanlaville (5), R Fischer (22), L Drévillon (23), A Briand-Suleau (3), C Metay (3), M Goossens (3), J Amiel (18), A Jacquette (24), I Giurgea (3)

1. Unité Fonctionnelle de Génétique Clinique, Département de Génétique et Cytogénétique, APHP, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. Unité Fonctionnelle de Génétique Clinique, Département de Génétique et Cytogénétique, APHP, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Centre de Référence Maladies Rares « Déficiences Intellectuelles de causes rares », Paris, France
3. Service de Biochimie et Génétique, APHP, Hôpital H. Mondor - A. Chenevier, Créteil, France
4. Serviço de Genética Médica, Hospital de Santa Maria, Lisboa, Portugal
5. Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Groupement Hospitalier Est, Bron, France
6. Département de Génétique et Procréation, CHU de Grenoble, Hôpital Couple Enfant, Grenoble, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU Hôpital l'Archet 2, Nice, France
8. Centro Genética Médica Jacinto Magalhães, INSA, IP – Porto, Porto, Portugal
9. Département de Pédiatrie - Unité de Génétique Clinique, CHU d'Amiens - Nord, Amiens, France
10. Service de Neuropédiatrie, APHP, Hôpital Trousseau, Paris, France
11. Service de Génétique et Embryologie Médicales, APHP, Hôpital Trousseau, Centre de Référence Maladies Rares "Malformations et Maladies Congénitales du Cervelet ", Paris, France
12. Centre de Génétique Humaine, Centre Hospitalier Régional Universitaire Hôpital Saint-Jacques, Besançon, France
13. Northern Regional Genetic Service, Auckland City Hospital, Auckland, France
14. Department of Clinical Genetics, Erasmus MC, Universitair Medisch Centrum Rotterdam, Rotterdam, Pays-bas
15. Département de Génétique Médicale, CHU de Marseille - Hôpital La Timone, Marseille, France
16. Service de Génétique Clinique, CHU de Rouen, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
17. Département de Génétique, Unité de Génétique Clinique, Centre de Référence Maladies Rares "Maladies Osseuses Constitutionnelles", Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
18. Département de Génétique, Unité de Génétique Clinique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
19. Department of Clinical genetics, Guy's and St Thomas Hospital, London, Royaume-Uni
20. Department of Clinical Genetics, VU University Medical Center, Amsterdam, Pays-bas
21. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
22. Northern Genetics Service, Teesside Genetics Unit, The James Cook University Hospital, Middlesbrough, Royaume-Uni
23. Service de Biochimie et Génétique, AP-HP, Hôpital H. Mondor - A. Chenevier, Créteil, France
24. Unité Fonctionnelle de Génétique Clinique, Département de Génétique et Cytogénétique, AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France

Le syndrome de Pitt Hopkins (PTHS), décrit en 1978, chez des patients présentant une déficience intellectuelle sévère, des anomalies neurologiques et une hyperventilation, est resté longtemps une entité clinique peu connue du spectre Rett-like. L'identification en 2007, du gène responsable, TCF4, codant un facteur de transcription de la famille des basic helix-loop-helix (bHLH) a permis de préciser les signes cliniques associés et d'en faire le diagnostic chez un plus grand nombre de patients. Cependant, le taux diagnostic reste faible - seulement 15% (33/220) dans notre série, et parfois encore plus faible dans la littérature - et ce syndrome semble encore être sous-diagnostiqué. Afin d'améliorer le diagnostic du PTHS, nous avons étudié, à l'aide des photographies, des vidéos, des formulaires cliniques détaillés et des images d'IRM cérébrale, le phénotype de 33 nouveaux patients, et repris les données des 79 patients décrits dans la littérature. Nous proposons un score clinique diagnostique, qui prend en compte les caractéristiques morphologiques faciales, mais également des éléments du phénotype neurologique et comportemental, présents chez plus de 60% des patients.

Nous avons redéfini le spectre mutationnel du gène TCF4, avec 30% de grandes délétions, 30% de petites délétions/insertions et 40% de mutations ponctuelles, étudié leur fréquence et leur localisation, afin de proposer une stratégie d'étude moléculaire. Nous n'avons pas identifié de corrélation génotype-phénotype et la plupart des mutations engendrent un codon stop

prématuré, ou sont des grandes délétions, ainsi le mécanisme moléculaire le plus probable est celui de l'haploinsuffisance.
En conclusion, dans cette étude nous avons résumé les connaissances actuelles sur le syndrome de Pitt Hopkins, à la fois sur le plan clinique et moléculaire, et nous proposons une nouvelle stratégie diagnostique s'appuyant sur un score clinique.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P028 - DEVELOPPEMENT D'UN OUTIL D'AIDE AU DIAGNOSTIC DEDIE AUX PATHOLOGIES RETINIENNES HEREDITAIRES

B BOCQUET (1), CP HAMEL (1), M HEBRARD (1), G MANES (1), I MEUNIER (2), I MOUGENOT (3)

1. Equipe génétique et thérapie des cécités rétiniennes et du nerf optique, INSERM U1051 : Institut des Neuroscience de Montpellier, Montpellier, France
2. Centre national maladies sensorielles génétiques, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
3. Département Informatique, Laboratoire d'Informatique de Robotique et de Microélectronique de Montpellier, Montpellier, France

Les pathologies rétiniennes héréditaires regroupent de nombreuses maladies. Elles sont responsables d'un grand nombre de symptômes qui peuvent s'avérer assez proches, mais dont la combinaison est souvent caractéristique d'une pathologie donnée. Le diagnostic de ces maladies est donc un processus qui requiert la prise en compte d'un ensemble d'éléments d'interrogatoire et d'observation ainsi qu'une expertise médicale pointue. Il peut se faire à plusieurs niveaux allant du type général de la maladie jusqu'à celui d'un phénotype caractéristique d'une mutation sur un gène particulier, ou encore reflétant un stade d'évolution donné.

Nous travaillons à la mise en place d'un outil informatique d'aide au diagnostic clinique des dystrophies rétiniennes héréditaires. Il s'agit dans un premier temps de définir une ontologie modélisant notre domaine d'application ; c'est-à-dire de lister l'ensemble des concepts et des termes associés qui sont utilisés pour qualifier un phénotype, puis de définir les relations qui les lient. Dans un second temps, nous spécifierons un ensemble de profils de maladies à partir d'un échantillon de 1500 patients dont le diagnostic est certain, que nous décrirons à l'aide du modèle de connaissances construit.

A l'issue de ce processus, nous proposerons une première brique logiciel d'aide au diagnostic clinique des dystrophies rétiniennes héréditaires. Il s'agira de permettre au médecin de saisir rapidement les principaux symptômes caractéristiques du patient à diagnostiquer (grâce à un formulaire guidé, basé sur l'ontologie) et de comparer ce profil à l'ensemble des maladies de la base de connaissances. Le système proposera alors un ou plusieurs diagnostics, que le demandeur pourra confronter à des images de référence. Le logiciel pourra aussi suggérer la réalisation de certaines analyses complémentaires pour discriminer les diagnostics probables.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P029 - MUTATIONS DANS LE DOMAINE TGFB BINDING PROTEIN-LIKE 5 DE FBN1 RESPONSABLES DES DYSPLASIES GELEOPHYSIQUES ET ACROMICRIQUES.

C LE GOFF (1), C Mahaut (2), LW Wang (3), S Allali (4), A Abhyankar (5), S Jensen (6), G Collod-Beroud (7), Y Alanay (8), D Bonnet (9), AF Brady (10), MP Cordier (11), K Devriendt (12), D Genevieve (13), POS Kiper (8), H Kitoh (14), D Krakow (15), M Le Merrer (16), SA Lynch (17), A Mégarbane (18), G Mortier (19), S Odent (20), M Polak (21), DL Rimoin (22), M Rohrbach (23), D Sillence (24), I Stolte-Dijkstra (25), A Superti-Furga (26), V Topouchian (27), S Unger (26), B Zabel (28), C Bole-Feysot (29), P Nischke (30), P Handford (6), JL Casanova (31), C Boileau (32), ss Apte (3), A Munnich (16), V cormier-daire (16)

1. 1Département de Genetique, Université Paris Descartes, , Paris, France, Unité INSERM U781, Hôpital Necker Enfants Malades, PARIS, France
2. Département de Genetique, Université Paris Descartes, , Paris, France, Unité INSERM U781, Hôpital Necker Enfants Malades, PARIS, France
3. Department of Biomedical Engineering, Lerner Research Institute, Cleveland Clinic Foundation, Cleveland, USA
4. 1Département de Genetique, Université Paris Descartes, Unité INSERM U781, Hôpital Necker Enfants Malades, PARIS, France
5. St. Giles Lab of Human Genetics of Infectious Diseases, Rockefeller Branch, The Rockefeller University, New York, USA
6. Department of Biochemistry, University of Oxford, Oxford, Royaume-Uni
7. INSERM, U827, F-34000 France and Université Montpellier1, UFR Médecine, Montpellier, France
8. Pediatric Genetics Unit, Department of Pediatrics Faculty of Medicine, Hacettepe University, Ankara, Turquie
9. Centre de Référence Malformations Cardiaques Congénitales Complexes - M3C, Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Paris Descartes, PARIS, France
10. North West Thames Regional Genetics, Northwick Park Hospital Harrow, London, Royaume-Uni
11. Service de génétique, groupement hospitalier est, HFME, Bron, France
12. Center for Human Genetics, Catholic University of Leuven, Louvain, Belgique
13. Department of Medical Genetics, Université Monpellier 1, INSERM U844, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
14. Department of Orthopaedic Surgery, Nagoya University School of Medicine Nagoya, Nagoya, Japon
15. Departments of Orthopedic Surgery and Human Genetics, David Geffen School of Medicine, UCLA, Los Angeles, USA
16. Department of Genetics, Université Paris Descartes, Unité INSERM U781, Hôpital Necker Enfants Malades, PARIS, France
17. National Centre for Medical Genetics, Our Lady's Childrens Hospital, Dublin, Irlande
18. Unité de Génétique Médicale, Université Saint Joseph, Beyrouth, Liban
19. Department of Medical Genetics, Antwerp University and Hospital, Edegem, Belgique
20. Service de Génétique Clinique, Hôpital Sud, CNRS UMR6061, Rennes, France
21. Endocrinologie gynecologie diabetologie pediatrique, AP-HP, Université Paris Descartes, Hôpital Necker Enfants Malades, PARIS, France
22. Medical Genetics Institute, Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles, USA
23. Division of Metabolism, Connective Tissue Unit, University Children's Hospital, Zurich, Suisse
24. Academic Department of Medical Genetics, The Children's Hospital at Westmead, Westmead, Australie
25. Department of Genetics, University Medical Center Groningen, University of Groningen, Groningen, Pays-bas
26. Departments of Pediatrics and Human Genetics, University of Lausanne, Lausanne, Suisse
27. Department of pediatric orthopedic surgery, Hopital Necker, PARIS, France
28. Centre for Pediatrics and Adolescent Medicine, Freiburg University Hospital, University of Freiburg, Freiburg, Allemagne
29. Plateforme Génomique, Fondation Imagine, Université Paris Descartes, PARIS, France
30. Plateforme de Bioinformatique, Université Paris Descartes, PARIS, France
31. Lab of Human Genetics of Infectious Diseases, University Paris Descartes and INSERM U980, Necker Medical School, Paris, France, St. Giles Lab of Human Genetics of Infectious Diseases, , The Rockefeller University, New York, USA
32. INSERM U698, Bichat Claude Bernard et Laboratoire de Biochimie et de Génétique Moléculaire, hôpital Ambroise Paré, PARIS, France

La dysplasie géléophysique (DG) et la dysplasie acromicrique (DA) appartiennent au groupe des dysplasies acroméliques, caractérisées par un retard statural sévère.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P030 - LE DIAGNOSTIC PHENOTYPIQUE DE L'HOMOCYSTINURIE DANS NOTRE PRATIQUE BIOLOGIQUE : ANALYSE DE NOTRE EXPERIENCE

A BERHOUNE (1), MR Messaoudène (1), Z Ouabou (1), ML Rahiel (2), L Yargui (1)

1. Laboratoire Central de Biochimie, CHU Mustapha, Alger, Algérie
2. Laboratoire Central de Biochimie, CHU Mustpha, Alger, Algérie

L'homocystinurie est caractérisée par une accumulation sanguine ainsi qu'une excrétion urinaire accrue de l'homocystéine. Le bloc métabolique en cause est varié et peut toucher soit l'une des trois enzymes clés du métabolisme de cet acide aminé soufré ou l'un des cofacteurs vitaminiques.

Depuis 1980, nous avons eu à répondre à plusieurs demandes de diagnostic de cette maladie.

Nous avons alors mis en pratique un screening basé sur des réactions simples de mise en évidence de l'accumulation des métabolites urinaires de l'homocystéine et un dosage quantitatif par HPLC de l'homocystéine et des vitamines B9 et B12.

Ainsi, la forte présomption clinique a conduit au diagnostic de 17 cas d'homocystinurie. Cependant, ce diagnostic reste incomplet si on ne s'adresse pas à des tests plus spécifiques. Le concours d'un laboratoire spécialisé muni d'un équipement pour culture cellulaire et analyse isotopique est nécessaire pour situer le bloc enzymatique en cause et même de préciser la sensibilité à la vitaminothérapie.

L'Hperhomocystéinémie majeure relevée au cours de cette maladie serait plus aiguillée vers le statut de l'homocystéine comme « f acteur de risque athéro-thrombotique » qui se surajoute au cortège des atteintes déjà multi-tissulaires et impotentes de cette maladie métabolique.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P031 - NEW GAIN OF FUNCTIONS MUTATIONS IN PCSK9 AND THEIR IMPACT IN FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA

M Abifadel (1), M Guérin (2), JP Rabès (3), W Le Goff (4), V Carreau (4), M Varret (3), E Bruckert (4), D Bonnefont-Rousselot (5), L Tosolini (3), P Couvert (4), A Carrié (4), A Prat (6), N Seidah (7), C Boileau (3)

1. INSERM U698, Hôpital Bichat, et Faculté de Pharmacie, USJ, Paris et Beyrouth, France
2. INSERM UMR939, Hôpital de la Pitié, Paris, France
3. INSERM U698, Hôpital Bichat, Paris, France
4. INSERM UMRS939, Hôpital de la Pitié, Paris, France
5. Department of Metabolic Biochemistry, Hôpital Pitié, Paris, France
6. Laboratory of Biochemical Neuroendocrinology, IRCM, Quebec, Canada
7. Laboratory of Biochemical Neuroendocrinology, IRCM, Paris, France

Introduction: Our discovery in 2003 of the first natural mutants of PCSK9 (Proprotein convertase subtilisin kexin 9) in French families with autosomal dominant hypercholesterolemia (ADH) has revealed the implication of an as-yet-unknown actor in cholesterol homeostasis and a new major player in the regulation of plasma LDL-C levels. PCSK9 has been shown to degrade the LDL receptor independently of its catalytic activity. Gain of function mutations are responsible of ADH, while loss of function variants are associated with a reduction of LDL-C and the risk of coronary heart disease. PCSK9 is now one of the most promising drug targets to lower LDL-C levels. Thus, the identification and characterization of new mutations of PCSK9 are very important.

Methods and Results: In order to provide more insight in the genetic causes of ADH, we are studying further patients with hypercholesterolemia unrelated to the LDLR or the APOB genes. We have recently identified 2 new mutations of PCSK9 in French families with severe hypercholesterolemia. These new mutations are highly conserved between species. We studied the impact of these mutations on the maturation of PCSK9. Furthermore, FACS analysis showed that one of these mutants lead to a strong reduction of LDL receptors on cell surface. Finally we proceeded to a complete lipoprotein analysis and evaluated for the first time, the capacity of the plasma of these PCSK9 mutations carriers to mediate cellular free cholesterol efflux

Conclusions: These data further contribute to the characterization of PCSK9 mutations and their impact in cholesterol diseases.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P032 - ETUDE MOLECULAIRE DU GENE PFKM CHEZ 5 PATIENTES PRESENTANT UNE MALADIE DE TARUI

N Birouk (1), A Bouhouche (1), L Capel (2), A Hubert-Buron (2), P Labrune (3), P Laforêt (4), F Parisot (2), F Petit (2), M Piraud (5), C Vial (6), F Zagnoli (7)

1. neurologie et neurogénétique, Hôpital des Spécialités de Rabat, Rabat, Maroc
2. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
3. Pédiatrie, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
4. Institut de myologie, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
5. Laboratoire de biochimie des maladies métaboliques, Centre de biologie et pathologie Est, Bron, France
6. Pathologies neuromusculaires, Hôpital neurologique Pierre Wertheimer, Bron, France
7. Neurologie, Hôpital d'Instruction des Armées Clermont Tonnerre, Brest, France

Introduction

La maladie de Tarui ou glycogénose de type VII (GSDVII) est une affection très rare du métabolisme du glycogène touchant l'isoenzyme musculaire de la phosphofructokinase (gène PFKM). Cliniquement, la GSDVII se manifeste par une intolérance à l'effort plus sévère que dans la maladie de McArdle sans phénomène de second souffle.

Le gène est localisé sur le bras long du chromosome 1 et une vingtaine d'anomalies de séquence a été rapportée.

Matériels et méthodes

5 patientes âgées de 30 à 60 présentant une intolérance à l'effort ont été incluses. La présentation clinique était variable d'une patiente à l'autre, allant de l'intolérance à l'effort modérée sans myoglobinurie jusqu'à des épisodes myalgies sévères compliquées d'épisodes de rhabdomyolyse. Une patiente présentait une faiblesse musculaire permanente apparue dans l'enfance.

Pour chacune, l'étude de la glycolyse musculaire en biochimie a révélé un déficit en phosphofructokinase.

Résultats

L'analyse moléculaire du gène PFKM a montré la présence de deux anomalies de séquence chez chaque patiente. Parmi les 5 anomalies de séquence identifiées, 2 avaient déjà été rapportées (c.1341+1G>A et c.2003delC) et 3 étaient nouvellement décrites (c.76G>C, c.165T>A et c.1500+1G>A).

Parmi les cinq patientes, une seule était hétérozygote composite.

Discussion

La pathogénicité des mutations non sens c.165T>A (p.Tyr55X) et d'épissage c.1500+1G>A ne fait pas de doute. Pour la mutation faux-sens c.76G>C, une étude in silico laisse prédire un effet délétère de la substitution de l'acide aspartique par une histidine en position 26, cet acide aminé étant, par ailleurs, très conservé.

La patiente présentant la mutation faux-sens est celle ayant la présentation clinique la plus sévère (myalgies sévères avec rhabdomyolyse) suggérant un rôle délétère plus important en présence d'une protéine PFKM modifiée qu'en l'absence de celle-ci.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P033 - LE DEFICIT EN PHOSPHOGLUCOMUTASE : UNE PISTE D'EXPLORATION DES MYOPATHIES NON ETIQUETEES

O Boespflug-Tanguy (1), C Bommelaer (2), L Capel (3), A Hubert-Buron (3), P Laforêt (4), F Parisot (3), F Petit (3), M Piraud (5), T Stojkovic (4)

1. Neuropédiatrie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. Centre de référence neuro-musculaire, Hôpital Hôtel-Dieu, Clermont-Ferrand, France
3. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
4. Institut de myologie, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
5. Laboratoire de biochimie des maladies métaboliques, Centre de biologie et pathologie Est, Bron, France

Introduction

La phosphoglucomutase (PGM) est l'enzyme située au carrefour entre glycogénogenèse et glycogénolyse permettant le passage du glucose-1-phosphate au glucose-6-phosphate via un intermédiaire diphosphorylé.

Le déficit en PGM est responsable d'une myopathie moins sévère que la maladie de McArdle et sa fréquence est donc probablement sous-estimée. Nous rapportons ici les données cliniques et biologiques collectées auprès de deux patients présentant un déficit en PGM.

Matériels et méthodes

Le premier patient est un homme de 37 ans adressé pour crampes récurrentes provoquées par l'exercice sans phénomène de second souffle. Il a présenté deux épisodes de rhabdomyolyse. La biopsie musculaire montrait une accumulation modérée de glycogène libre de structure normale.

Le second patient est un jeune homme de 17 ans adressé pour intolérance à l'effort compliquée d'épisodes de myolyse, associée à des troubles cognitifs et comportementaux.

Pour chaque patient, il a été réalisé une étude en biochimie de la glycolyse musculaire, une analyse moléculaire du gène PGM1, un test d'effort de l'avant-bras (grip test) et une spectrométrie RMN du carbone 13.

Résultats

L'étude en biochimie de la glycolyse musculaire a montré pour les deux patients un blocage de la voie métabolique entre le glucose-1-phosphate et le glucose-6-phosphate avec une activité PGM très réduite (~1%). Dans les deux cas, le grip test a montré une élévation normale de l'acide lactique après effort. L'ammoniémie était très fortement augmenté après effort chez le patient 1 (x 4) alors qu'elle est restée normale chez le patient 2. Il n'a pas été retrouvé de surcharge en glycogène en spectroscopie RMN du 13C pour les deux patients.

Sur le plan moléculaire, le patient 1 présentait deux mutations hétérozygotes : une mutation faux-sens c.343A>G (p.Thr115Ala) et une mutation d'épissage c.1145-1G>C. Le patient 2 présentait une mutation d'épissage homozygote c.873+5G>A pour laquelle l'étude des ARNm de PGM1 dans le muscle a permis de mettre en évidence 3 transcrits : le transcrit normal en très faible quantité, un transcrit court majoritaire (délétion de 43 pb dans la partie terminale de l'exon 6 avec décalage du cadre de lecture) et un transcrit très court (délétion de 57 pb dans la partie terminale de l'exon 6 sans décalage du cadre de lecture).

Discussion

Le déficit en PGM semble donc être à l'origine d'une intolérance à l'effort, mimant une maladie de McArdle, mais avec persistance d'une élévation de l'acide lactique à l'effort et avec une accumulation inconstante de glycogène sur la biopsie musculaire. L'exploration biochimique et l'analyse moléculaire sont donc les examens les plus pertinents pour le diagnostic et doivent donc être envisagés chez tout patient présentant une intolérance à l'effort court compliquée d'épisodes de rhabdomyolyse, même en présence d'une élévation du lactate à l'effort.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P034 - DEFICIT EN GLYCOGENINE MUSCULAIRE ET ANOMALIES DE LA VOIE DE SYNTHESE DU GLYCOGENE

B Eymard (1), A Hubert-Buron (2), P Laforêt (1), F Parisot (2), F Petit (2), M Piraud (3), P Pontabry (2)
1. Institut de myologie, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
3. Laboratoire de biochimie des maladies métaboliques, Centre de biologie et pathologie Est, Bron, France

Introduction

Le glycogène est une molécule complexe polymère du glucose qui possède des chaînes glycosylées liées en α(1-4) et ramifiées en α(1-6). La synthèse du glycogène a lieu principalement dans le foie et le muscle et permet de libérer rapidement du glucose. Cette synthèse nécessite la présence d'une protéine initiatrice appelée glycogénine. Il existe deux formes : la glycogénine-1 musculaire et la glycogénine-2 hépatique. Le premier cas de déficit en glycogénine musculaire - appelé glycogénose de type XV - a été récemment rapporté chez un homme jeune présentant une cardiomyopathie (une mutation non-sens et une mutation faux-sens).

Matériels et méthodes

Nous rapportons ici le cas d'un patient âgé de 47 ans présentant un tableau clinique de myopathie lentement évolutive comportant une faiblesse musculaire proximale et distale des quatre membres, sans atteinte cardiaque ni respiratoire. Il ne présentait pas de déficit de la glycogénolyse et le dosage des activités des enzymes musculaires était normal. La biopsie musculaire montrait une importante surcharge en glycogène incomplètement digéré par la diastase (amylopectinose). Le tableau clinique de ce patient était compatible avec un déficit en glycogène synthase. Cependant, après analyse moléculaire, le diagnostic en glycogénose type 0 n'a pas été confirmé. Nous avons donc recherché la présence d'anomalies de séquences dans le gène de la glycogénine musculaire (GYG1) par PCR et séquençage.

Résultats

Les résultats ont montré deux anomalies moléculaires dans le gène GYG1. Il s'agissait d'une mutation non-sens (c.646C>T) dans l'exon 6 et d'une mutation d'épissage (c.144+3 G>C) dans l'exon 2, retrouvées à l'état hétérozygote et pour lesquelles la pathogénicité ne faisait pas de doute. Les ARNm totaux ont été extraits du muscle et analysés par RT-PCR. Les ADNc ont été amplifiés et analysés montrant la modification du site normal d'épissage.

Discussion

Nous avons donc montré chez ce patient deux anomalies de séquence dans le gène de la glycogénine-1 à l'origine d'un déficit total en glycogénine musculaire perturbant ainsi la synthèse du glycogène. Le déficit en glycogénine est donc très probablement à l'origine des troubles observés chez ce patient. Les différences de présentation clinique entre notre patient et le premier cas rapporté peuvent être expliquées par la nature différente des anomalies de séquences retrouvée chez les deux patients.

L'analyse moléculaire du gène de la glycogénine musculaire devrait être envisagé chez tout patient présentant une glycogénose musculaire avec amylopectinose, après avoir écarté les glycogénoses de type IV (déficit en enzyme branchante) et 0.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P035 - A FUNCTIONAL VARIANT OF CYP4F2 INVOLVED IN THE Ω-OXIDATION OF VERY LONG CHAIN FATTY ACIDS IS ASSOCIATED WITH CHILDHOOD CEREBRAL FORM OF X-LINKED ADRENOLEUKODYSTROPHY

M Barbier (1), C van Engen (2), I Dijkstra (2), R Ofman (2), M Schackmann (2), J Varin (1), M Vidaud (1), R Wanders (3), S Kemp (2), P Aubourg (1)

1. UMR 745, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Paris-Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
2. Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, Pays-bas
3. Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, France

X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD; MIM# 300100) is a progressive neurodegenerative disease that is caused by mutations in the ABCD1 gene. ALD is characterized clinically by a striking and unpredictable variation of neurologic phenotype, ranging from the rapidly progressive and lethal childhood cerebral form (CCALD) to adrenomyeloneuropathy (AMN) that affects only the spinal cord in adults.

Mutations in the ABCD1 gene impair the peroxisomal β-oxidation of very long chain fatty acids (VLCFAs), and their subsequent accumulation in plasma and tissues. This major biochemical hallmark is thought to be at the basis of the physiopathogenesis of X-ALD.

The ω-oxidation of VLCFAs is an alternative pathway that can metabolize excess of VLCFAs. A rate limiting enzyme in this pathway is coded by CYP4F2. In absence of correlation between ABCD1 mutations and X-ALD phenotypes, we hypothesized that CYP4F2 polymorphisms could influence X-ALD phenotype. In a population of 151 X-ALD patients with extreme phenotypes (74 CCALD vs 77 AMN), we detected an association of a non synonymous polymorphism (rs2108622 C/T; p.Val433Met) with CCALD (P=0.0057; OR=2). Preliminary functional results show that the minor allele T (CYP4F2 433Met), which is more frequent in CCALD patients, markedly decreases the ω-oxidation of VLCFAs in vitro.

This result is the first link between the ω-oxidation pathway and X-ALD phenotypes, paving the way to further functional studies and pharmacological approaches.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P036 - PREVALENCE DES MUTATIONS DE LA NEUROKININE B ET DE SON RECEPTEUR NK3R DANS UNE COHORTE DE 193 PATIENTS PRESENTANT UN HYPOGONADISME HYPOGONADOTROPE NORMOSMIQUE CONGENITAL ISOLE (NCHH)

B FRANCOU (1), J BOULIGAND (2), A VOICAN (3), L AMAZIT (3), S TRABADO (4), J FAGART (3), G MEDURI (5), S BRAILLY-TABARD (6), P CHANSON (7), P LECOMTE (8), J YOUNG (9), A GUIOCHON-MANTEL (10)

1. Génétique Moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, Hôpital Universitaire de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
2. Génétique Moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, Hôpital Universitaire de Bicêtre, Le kremlin-Bicêtre, France
3. INSERM U693, FACULTE DE MEDECINE PARIS SUD, Le Kremlin Bicêtre, France
4. Génétique Moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, Hopital Universitaire de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
5. Génétique Moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, Hôpital Universitaire de Bicêtre, Le Kremlin Bicetre cedex, France
6. Génétique moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, Hôpital Universitaire de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
7. Endocrinologie et maladies de la reproduction, Hôpital Universitaire de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
8. Endocrinologie, CHU TOURS, Tours, France
9. Endocrinologie et des maladies de la reproduction, Hôpital Universitaire de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
10. Génétique moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, Hôpital Universitaire Paris Sud, Le Kremlin Bicêtre, France

Objectif: Evaluer la prévalence des mutations de TAC3/TACR3 (codant respectivement la neurokinine B et son récepteur NK3R) chez des patients nCHH, caractériser ces nouvelles mutations et le profil neuroendocrinien des nCHH avec mutations bialléliques délétères de TAC3/TACR3.

Résultats: Sur 378 patients avec CHH, nous avons sélectionné 193 nCHH. Nous avons identifié 9 patients avec variants TAC3/TACR3. La prévalence était donc de 4.6%. Nous avons caractérisé 7 nouveaux variants de TACR3 (1 frameshift, 2 non sens et 4 faux sens) chez 5 patients. La modélisation et les études fonctionnelles ont démontré le caractère délétère d'une mutation faux sens (Tyr267Asn) entrainant un mauvais adressage à la membrane du NK3R muté.
Nous avons trouvé un rapport FSH/LH élevé (p 0.0001) chez 11 patients avec mutations bialléliques de TAC3/TACR3 versus 49 nCHH avec mutations bialléliques de GPR54/KISS1R, GNRH1, GNRHR ou sans mutation identifiée ainsi que chez 50 patients Kallmann avec mutations de KAL1, FGFR1 ou PROK2/PROKR2. Les patients avec mutations bialléliques TAC3/TACR3 avaient un profil de sécrétion apulsatile de LH mais un ralentissement de la fréquence des pulses de sous-unités alpha. L'administration pulsatile de GnRH a augmenté cette fréquence et réduit le rapport FSH/LH.

Conclusion: L'altération de l'axe gonadotrope chez les nCHH avec mutations de TAC3/TACR3 est liée à une diminution de la fréquence de la GnRH entraînant une diminution de la fréquence de la sous-unité alpha et une élévation du rapport FSH/LH. Ce rapport hormonal peut donc être utilisé comme moyen de dépistage des patients nCHH avec mutation de TAC3/TACR3.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P037 - OBSERVATION FAMILIALE RARE DU SYNDROME WT MEMBRES SANG.

RARE FAMILIAL OBSERVATION OF WT BLOOD LIMB SYNDROME.

S Chafai Elalaoui (1), I Ratbi (2), S Elguezzar (3), M Tajir (4), A Sefiani (5)

1. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc
2. Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc
3. Service de pédiatrie, Hôpital d'Enfants, Rabat, Maroc
4. Département de gentique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
5. Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc

Le syndrome WT a été décrit pour la première fois par Gonzalez et al. en 1977 chez 2 familles, avec des noms commençant par W et T. Plusieurs membres de ces familles avaient une anémie hypoplasique, et des anomalies des membres (syndactylie, anomalies des pouces, hypoplasie des 5èmes métacarpiens). Les caractéristiques importantes différenciant ce syndrome de l'anémie de Fanconi sont une transmission autosomique dominante et l'absence de cassures chromosomiques. Moins de 6 familles ont été décrites dans la littérature. Le mécanisme génétique sous-jacent est encore inconnu à ce jour.

Nous rapportons ici un cas familial de syndrome WT. Il s'agit d'une jeune fille âgée de 14 ans adressée en consultation de génétique pour thrombopénie associée à une brachymétacarpie. Elle n'a pas eu de retard des acquisitions psychomotrices, et n'a pas de retard mental. Suite à ses ménarches à l'âge de 14 ans elle a eu des métrorragies importantes, qui ont justifié la consultation. A l'examen, elle avait des mensurations normales, et pas de dysmorphie faciale particulière. Elle présentait une brachymétacarpie bilatérale des 4èmes métacarpes avec une déviation cubitale des mains, et une brachymétatarsie bilatérale des 4èmes métatarses. Elle avait une anémie avec thrombopénie. Son père, âgé de 50 ans, avait aussi une brachymétatarsie bilatérale du 4ème métatarse. Par ailleurs, la numération formule sanguine du père et son taux de réticulocytes étaient normaux. La patiente est décédée 6 mois plus tard par hémorragie cérébrale, suite à sa thrombopénie.

A travers cette observation, nous faisons le point sur le syndrome WT, et nous comparons notre cas avec ceux déjà décrits dans la littérature.

Mots clés : syndrome WT, anémie, anomalies des membres.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P038 - OBSERVATION RARE DU SYNDROME BOSMA ARHINIA MICROPHTALMIE. RARE OBSERVATION OF BOSMA ARHINIA MICROPHTALMIA SYNDROME.

S Chafai Elalaoui (1), I Ratbi (2), H Zerhouni (3), A Sefiani (4)

1. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc
2. Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc
3. Service de chirurgie pédiatrique, Hôpital d'Enfants, Rabat, Maroc
4. Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc

L'Arhinia (ou absence du nez) est associée à l'absence du système olfactif, le palais et des anomalies oculaires. Bosma et al. a rapporté en 1981 les cas de deux garçons non apparentés avec une hypoplasie sévère du nez et des yeux, un déficit du goût et de l'odorat, un hypogonadisme hypogonadotrophe avec une intelligence normale. D'autres anomalies sont associées à ce syndrome à type de microphtalmie, hypertélorisme, hypoplasie du conduit lacrymo-nasal, fente palatine, atrésie des choanes, hypodontie, et hypoplasie des sinus. Le mécanisme génétique sous-jacent est encore inconnu à ce jour.

Nous rapportons dans ce travail l'observation d'un nourrisson âgé de 3 mois adressé en consultation de génétique pour syndrome polymalformatif. Les parents ont eu une période d'infertilité de 20 ans, et une notion de fausse couche à 3 mois de grossesse il y a 3 ans. La grossesse a été menée à terme. A l'examen, il présentait une arhinie, et une agénésie des fosses nasales. Il présentait une dysmorphie faciale avec front fuyant, hypertélorisme, sourcils rares, oreilles bas implantées, et rétrognatisme. L'échographie cardiaque et abdominale étaient normales. La TDM maxillo-faciale a montré une agénésie sunésienne maxillaire frontale et sphénoidale, et des cellules éthmoidales, une agénésie des fosses nasales avec absence des structures cartilagineuses nasales. L'examen ophtalmologique a montré une microphtalmie, une dystrophie de la cornée, une opacité cornéenne, une pupille déformée, et une cataracte globuleuse bilatérale. Le caryotype était normal.

A travers cette observation, nous faisons le point sur le syndrome Bosma arhinia microphtalmie et nous comparons notre cas à ceux déjà décrits dans la littérature.

Mots clés : Bosma arhinia, microphtalmie, conseil génétique.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P039 - ATTEINTES RENALES SEVERES AU COURS DU SYNDROME DE KABUKI

JB Courcet (1), L Faivre (1), C Michot (2), E Alix (3), J Amiel (4), C Baumann (5), MP Cordier (6), V Cormier-Daire (4), MA Delrue (7), B Gilbert-Dussardier (8), A Goldenberg (9), ML Jacquemont (10), A Jaquette (11), H Kayirangwa (4), D Lacombe (7), M Le Merrer (4), S Lyonnet (4), A Moncla (12), S Odent (13), A Pelet (4), N Philip (14), L Pinson (15), S Poisson (2), KHL Quan Sang (4), J Roume (16), E Sanchez (15), D Sanlaville (15), P Sarda (15), M Till (3), A Toutain (12), C Vincent-Delorme (17), C Vincent-Delorme (17), M Willems (4), D Geneviève (15)

1. Pédiatrie 1 et génétique médicale, CHU, Hôpital d'enfants, Dijon, France
2. Département de Génétique, Hôpital Necker enfants Malades, Paris, France
3. Département de cytogénétique, Hospices civils de Lyon, Centre des neurosciences, Tiger, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France
4. Département de Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
5. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
6. Unité de génétique clinique, Hôpital Femme Mère Enfant, CHU de Lyon Est, Bron, France
7. Service de génétique médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
8. Service de Génétique, CHU La Milétrie, Poitiers, France
9. Unité de génétique clinique, CHU Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
10. Service de génétique médicale, Groupe Hospitalier Sud, La Réunion, France
11. Service de génétique, Hôpital de la Pitié-Salpétrière, Paris, France
12. Service de génétique, Hôpital Bretonneau, CHU, Tours, France
13. Service de génétique clinique, Hôpital Sud, Rennes, France
14. Unité de génétique clinique, Hôpital d'enfants, CHU Timone, Marseille, France
15. Département de Génétique Médicale, CHRU Montpellier, Université Montpellier 1, Unité Inserm U844, Montpellier, France
16. Service de génétique, Hôpital Poissy-saint Germain, Poissy, France
17. Service de génétique médicale, Centre Hospitalier, Arras, France

Le syndrome de Kabuki (SK) est une pathologie rare associant un retard de croissance postnatal, une déficience intellectuelle de sévérité variable, une dysmorphie faciale, des malformations cardiaques et squelettiques, et de nombreux autres signes qui ont été décrits de manière inconstante. Plus de 700 cas ont été décrits à travers le monde. Des mutations de novo du gène MLL2 ont été mises en évidence chez plus de 300 patients et représentent environ 70% des patients avec SK. Des atteintes rénales ont été décrites chez 12 à 43% des patients porteurs d'un SK dans la littérature. Celles-ci sont variées mais rarement sévères: anomalies de forme, de position et dysgénésie pour l'appareil urinaire haut; duplicité, reflux vésico-urétéral, hydronéphrose et syndrome de la jonction pour les voies urinaires excrétrices. A partir d'une cohorte de patients présentant un syndrome de Kabuki et inclus dans le PHRC national, une étude particulière de l'atteinte rénale a été réalisée. Nous disposons des données rénales pour 82 patients. Presque 40% des patients présentent une malformation rénale et la fonction rénale est dans la grande majorité des cas normale. Deux cas d'atteinte rénale sévère conduisant à une insuffisance rénale terminale sont rapportés. Le patient 1 présente une agénésie rénale gauche et d'une hypoplasie rénale majeure droite. La créatininémie dès le premier mois de vie était de 100 µmol/L, soit une clairance estimée à 20 mL/min/1,73m^2 selon la formule de Schwartz. La fonction rénale s'est détériorée progressivement, la clairance de la créatinine était évaluée à 18 mL/min/1,73m^2 à 2 ans. Une mutation tronquante de MLL2 (Exon 34, c.9829C>T, p.Gln3277X) a été mise en évidence. Le patient 2 a développé dans l'enfance une insuffisance rénale débutante associée à une atteinte tubulo-interstitielle. Les reins se sont progressivement atrophiés, la fonction rénale s'est détériorée jusqu'à l'insuffisance rénale terminale à 27 ans. Il n'a pas été retrouvé de mutation MLL2 chez ce patient. Dans la littérature, deux autres cas avec atteinte rénale sévère, dont la cause n'est pas donnée, ont été décrits, et ont tous deux eut une transplantation rénale. En conclusion, la fonction rénale doit faire partie du suivi des syndromes de Kabuki, avec ou sans malformation rénale, compte tenu du risque d'insuffisance rénale malformative ou fonctionnelle.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P040 - ANALYSE DE VARIANTS DU GENE MBNL1 : EFFET PROTECTEUR SUR L'EXPRESSION DE LA DYSTROPHIE MYOTONIQUE DE TYPE 1

V Huin (1), S Schraen-Maschke (2), F Vasseur (3), H Radvanyi (4), P Devos (2), K Dupont (2), B Sablonnière (1)
1. INSERM U837, équipe 1, Alzheimer & Tauopathies, Centre de recherche Jean-Pierre Aubert, Lille, France
2. UF de Neurobiologie, Centre de biologie Pathologie, CHRU, Lille, France
3. CERIM, Faculté de Médecine, Lille, France
4. Biochimie Génétique, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France

La dystrophie myotonique de type 1 (DM1) est une maladie monogénique de transmission autosomique dominante caractérisée par une myotonie, une dystrophie musculaire, une atteinte multisystémique et une grande variabilité dans son expression clinique. La maladie est causée par la mutation instable du gène DMPK avec une expansion de triplets CTG dans la région 3'UTR du gène. La taille de l'expansion corrèle avec la gravité du phénotype, mais cette corrélation est imparfaite et n'explique pas l'ensemble de la variabilité des symptômes. La mutation instable entraîne la séquestration de protéines se liant aux répétitions du motif CUG parmi lesquelles le facteur d'épissage Muscleblind-Like 1 (MBNL1). La séquestration de MBNL1 aboutit à sa perte de fonction et explique l'altération de l'épissage de nombreux transcrits cibles impliqués dans la maladie. Sont notamment altérés les transcrits issus des gènes cTNT (troponine c) conduisant aux troubles de conduction cardiaque, ClC1 (canal chlore de type 1) dont la dérégulation participe à la myotonie ou encore IR (récepteur de l'insuline) conduisant à une anomalie de tolérance au glucose.

Pour étudier l'effet du gène MBNL1 dans la variabilité clinique, nous avons réalisé une étude d'association rétrospective cas-témoins portant sur 451 sujets caucasiens, issus de familles indépendantes. Cette étude compare les fréquences alléliques, génotypiques et haplotypiques de 6 SNPs du gène MBNL1 chez 301 patients DM1 et 150 témoins. Pour chacun des 451 sujets, la mutation (CTG)n a été recherchée et mesurée. Nous avons ensuite répartis les patients en 5 classes de gravité croissante afin de rechercher une association entre ces SNPs et la gravité du phénotype des malades.

L'étude d'association retrouve 2 SNPs de MBNL1 avec des fréquences alléliques significativement différentes entre les patients et les témoins (p= 0,0361 et 0,0209)(tableau 1A). L'analyse des haplotypes de SNPs en déséquilibre de liaison retrouve 2 haplotypes dont les fréquences sont significativement différentes entre les patients et les témoins (p= 0,0413 et 0,0183)(Tableau 1B). Nous avons ensuite utilisé un modèle statistique de régression linéaire multivariée qui corrèle la gravité du phénotype à différentes variables (taille de l'expansion, âge) et aux haplotypes de SNPs significativement associés à la DM1. L'analyse des haplotypes de SNPs démontre une corrélation inverse significative pour 2 haplotypes de MBNL1 (p= 0,0354 et 0,0194). Ainsi, à taille d'expansion égale et à âge égal, les patients possédant l'un de ces 2 haplotypes ont un phénotype moins grave. Ces 2 haplotypes se comportent comme des facteurs protecteurs de DM1 et expliquent à eux deux 2,16% de la variance du phénotype. De plus, ces 2 haplotypes sont retrouvés chez 74% des patients.

Il sera nécessaire d'analyser la fonctionnalité de ces variants et leur effet sur le produit du gène. Cette étude préliminaire démontre que MBNL1 se comporte comme un modulateur de l'expression de la DM1.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P041 - GENOTYPE ET PHENOTYPE DES DEFICITS EN ADENINE PHOSPHORIBOSYLTRANSFERASE : ETUDE DE 40 FAMILLES

G Bollée (1), J Harambat (2), L Mockel (3), D Azous (3), L Heidet (4), I Ceballos-Picot (5)

1. Nephrologie adulte, Hôpital Necker-EM, Paris, France
2. Pédiatrie et centre de référence des maladies rénales du Sud-Ouest, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
3. Biochimie métabolique, Hôpital Necker-EM, Paris, France
4. Nephrologie pédiatrique, Hôpital Necker-EM, Paris, France
5. Laboratoire de Biochimie métabolique, Hôpital Necker-EM, Paris, France

L'adénine phosphoribosyltransferase (APRT) est une enzyme de la voie de récupération des bases puriques qui catalyse la formation d'AMP à partir de l'adénine et du 5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate (PRPP). Le déficit en APRT ou urolithiase de 2,8-dihydroxyadénine (2,8-DHA) est une maladie métabolique autosomale récessive, largement décrite dans la population japonaise (type II) mais rarement dans les autres groupes ethniques (type I) excepté chez les Islandais. Le déficit complet en APRT entraîne une oxydation de l'adénine en 2,8-DHA,composé très insoluble qui cristallise dans les urines conduisant à des lithiases de 2,8-DHA qui peuvent évoluer vers l'insuffisance rénale si non traitées par l'allopurinol.

Les allèles APRT*Q0, responsables du déficit de type I, représentent une collection hétérogène de mutations et les patients sont soient homozygotes soit hétérozygotes composites. Dans le déficit de type II, l'allèle APRT*J comporte une mutation unique dans l'exon 5 (Met136Thr) et les patients sont homozygotes APRT*J/APRT*J ou très rarement APRT*J/APRT*Q0.

Nous décrivons ici l'étude du génotype APRT*Q0 dans une cohorte de patients avec déficit complet en APRT de type I: 40 patients dans 33 familles diagnostiqués de 1978 à 2011. Une mutation prévalente, l'insertion d'un T au niveau du site donneur d'épissage de l'intron 4 (c.400+2insT), correspond à 40% des mutations identifiées et existe à l'état hétérozygote ou homozygote dans 22 des 33 familles étudiées. Cette mutation a pour conséquence une erreur d'épissage conduisant à l'absence de l'exon 4 au niveau de l'ARNm et à la formation d'un codon STOP prématuré (Ala108GluX3). Il est à noter que cette mutation n'a été détectée que dans les familles de France métropolitaine, 2 patients italiens et 1 suisse. Des mutations autres que c.400+2insT, à l'état homozygote, sont détectées chez les patients originaires d'Espagne, Liban, Maroc, Pologne, Portugal, Sénégal, Tunisie et Turquie. Le faible nombre de cas rapportés dans la littérature est en discordance avec la fréquence estimée des hétérozygotes de 0.4 à 1.2% dans la population caucasienne. Par conséquent, le déficit en APRT est une maladie métabolique sous-diagnostiquée. Nous n'avons pas trouvé de corrélations claires entre le génotype et le phénotype, cependant une telle analyse fut rendue complexe par l'importante hétérogénéité du traitement des patients et le délai très variable entre les premiers signes cliniques et le diagnostic. Il existe une importante hétérogénéité phénotypique intra- ou inter-familiale chez les patients porteurs de mêmes mutations montrant que des facteurs environnementaux (diète purique, prise hydrique, périodes de deshydratation…) ou modificateurs (i.e. osteopontin, inhibiteur de cristallisation) interviendraient pour expliquer cette variabilité phénotypique.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P043 - THE ICS -INSTITUT CLINIQUE DE LA SOURIS- GENETIC ENGINEERING AND MODEL VALIDATION DEPARTMENT: GENERATION OF CUSTOMIZED AND READ-TO-USE GENETICALLY ENGINEERED MICE

MC Birling (1), A Dierich (2), S Jacquot (3), Y Hérault (4), G Pavlovic (5)
1. Ingénierie Génétique, ICS, Illkirch, France
2. Service cellules ES, ICS, Illkirch, France
3. Génotypage, ICS, Illkirch, France
4. Directeur ICS, ICS, Illkirch, France
5. Validation des modèles, ICS, Illkirch, France

The Institut Clinique de la Souris - ICS is a research infrastructure that provides extensive services ranging from the development of mouse models to comprehensive phenotyping. The Genetic Engineering and Model validation Department is dedicated to the development and molecular validation of new mouse models.
Four main services are offered through the Department:

1) The Genetic Engineering service provides expert advises, proposes strategies and takes care of the design of new targeting constructs. All kind of constructs can be developed in the service:
• Constructs for random insertion of a transgene (traditional or BAC construct),
• Constructs targeted insertion of a transgene or for targeted transgenesis (Constitutive knock-out, Tissue specific knock-out, Point mutation, Humanization, etc)
The Genetic Engineering service is also in charge of the screening and validation of the ES cell clones. Long range PCR analysis, sequencing of the inserted fragment as well as Southern blot analysis on the genomic DNA of embryonic stem (ES) cells are routinely performed.

2) The ES cell service is dedicated to the electroporations, selections, picking, amplification and karyotyping of the ES cell clones. New ES cell lines from various genetic backgrounds have been derived. Since 2009, the electroporations are routinely performed in an in house derived C57Bl6/N ES cell line.

3) The Genotyping service confirms the insertion of the transgene when the mice are born. A PCR genotyping strategy is provided to the client at the delivery of the model.

4) The Model Validation service is in charge of the validation of the functionality of the genetic modifications introduced in vivo. The techniques choosen for these analyzes are dependent on the mouse model (qPCR, RT-qPCR, Southern blot, Western blots…). The relevance of this molecular analysis before the generation of phenotyping cohorts has been shown very important.

In addition to the service activities, the department is involves in several international consortium (EUCOMM, EUCOMMtools, CREATE, GENCODYS, IMPC) and several internal research and development programs (eg. development of new mouse tools) are driven.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P044 - GENETIC ANALYSIS IN INDEPENDENT PATIENTS WITH LEFT VENTRICULAR NON COMPACTION: YIELD OF MUTATION SCREENING AND IDENTIFICATION OF RBM20 AS A NEW GENE INVOLVED IN THE DISEASE

E Villard (1), G Habib (2), E Donal (3), JC Eicher (4), C Pascal (5), R Isnard (1), G Dilanian (1), L Duboscq-Bidot (1), P Richard (6), P Komajda (1), Ph Charron (1)

1. Inserm UMRS 956 & AP-HP, Hôpital La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. service de cardiologie, CHU de la Timone, Marseille, France
3. service de cardiologie, Hopital de Pontchaillou, Rennes, France
4. service de cardiologie, CHU Dijon, Dijon, France
5. service de cardiologie, Hopital Guillaume et Rene Laennec, Nantes, France
6. service de biochimie, Hôpital La Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Background: Left ventricular non compaction (LVNC) is a cardiomyopathy characterized by an excessively prominent trabecular meshwork and deep intertrabecular recesses. Some mutations have been described as responsible for LVNC but the precise prevalence of the related genes and the impact of mutation screening in clinical practice are poorly understood.

Objective: To assess in a cohort of patients with LVNC the prevalence of mutations in three genes previously involved in LVNC (MYH7, TAZ, LDB3) and in two candidate-genes not reported until now (NKX2.5 and RBM20), whatever the familial context.

Methods: Blood DNA was extracted from a population of 59 consecutive patients with a definitive diagnosis of LVNC (Echo core lab), from the French registry of LVNC. The coding exonic sequences and intron-exon boundaries were amplified by PCR and analyzed by HRM (High resolution melting). Profiles suggestive of a variant were sequenced with ABI Prism 3100 Genetic Analyzer. The suspected mutations were genotyped in a control population (>240 chromosomes); segregation within the families were analysed when available; inter-species conservation was analysed after multiple protein sequence alignement.

Results: We identified five mutations in MYH7 gene, two new missense mutations in the TAZ gene (Phe128Ser and Met155Val), no mutation in the LDB3 gene (but two new genetic polymorphisms), one genetic variant of unknown significance in NKX2.5 gene, and two mutations in RBM20 gene.

The total yield of mutation screening was 9/59 (15%), and was similar in sporadic and familial cases.

Conclusion: Mutations are identified whatever the familial context and MYH7 gene is the most frequent gene involved in LVNC in our cohort. We identified RBM20 gene as a new gene involved in LVNC. These findings may have impact for the management of LVNC patients and relatives in clinical practice, including family cardiac screening and mutation screening.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P045 - UNE MUTATION PONCTUELLE RECURRENTE DU GENE PRKAR1A A L'ORIGINE D'ACRODYSOSTOSE AVEC RESISTANCE MULTIPLES AUX HORMONES SIGNALANT PAR LA VOIE GPCR-GSA-CAMP-PKA

C Auzan (1), P Bougnères (2), M Cancel (3), P Chanson (4), E Clauser (5), A Couvineau (6), Y Gunes (3), A Linglart (7), C Menguy (3), E Motte (3), G Pinto (8), C SILVE (9)

1. INSERM Unité 970, Centre de Recherche Cardiovasculaire, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
2. INSERM Unité 986 et Service d'Endocrinologie de l'Enfant, Hôpital Bicêtre, Kremlin Bicêtre, France
3. INSERM Unité 986, Hôpital St. Vincent de Paul, Paris, France
4. Service d'Endocrinologie Adulte et des Maladies de la Reproduction et Centre de Référence des Maladies Endocriniennes Rares de la Croissance, Hôpital Bicêtre, Kremlin Bicêtre, France
5. Département de Biologie Hormonale et Métabolique, Laboratoire d'Oncogénétique, Hôpital Cochin, Paris, France
6. INSERM Unité 773, Centre de Recherche Biomédicale Bichat-Beaujon, Université Paris–Denis Diderot, Paris, France
7. Service d'Endocrinologie de l'Enfant et Centre de Référence des Maladies Rares du Métabolisme du Calcium et du Phosphore, Hôpital Bicêtre, Kremlin Bicêtre, France
8. Service d'Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Necker–Enfants Malades, Paris, France
9. INSERM Unité 986, et Centre de Référence des Maladies Rares du Métabolisme du Calcium et du Phosphore, Service de Biochimie Hormonale et Génétique, Hôpital St. Vincent de Paul et Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris, France

L'acrodysostose, aussi appelée "syndrome of peripheral dysostosis, nasal hypoplasia and mental retardation," est une forme rare de dysplasie caractérisée par une dysostose faciale et une extrême brièveté des mains et des pieds. Radiologiquement, la brachydactylie affecte symétriquement tous les métacarpes et phalanges, avec un aspect d'épiphyse en cône des phalanges et une soudure prématurée des épiphyses des phalanges et métacarpiens. Un aspect similaire est observé au niveau des métatarses et phalanges du pied, sauf du premier doigt. Du fait de similarités phénotypiques, l'acrodysostose a été rapprochée de la pseudohypoparathyroidie (PHP) et de la pseudopseudohypoparathyroidie (PPHP). Cependant le phénotype osseux est beaucoup plus sévère dans l'acrodysostose, et si des anomalies du métabolisme phosphocalcique y ont été signalées, elles sont peu documentées. Nous avons décrit chez trois patients non apparentés atteints d'acrodysostose une résistance multiple à des hormones agissant par la voie de signalisation RCPG-Gsa-cAMP- protéine kinase A (PKA), dont la PTH et la TSH. Chez les trois patients, nous avons identifié une mutation ponctuelle hétérozygote (c.1101C>T) dans l'exon 11 du gène PRKAR1A, qui code pour la sous unité régulatrice de la PKA (N Engl J Med 2011;364:2218-26). Cette transversion change le codon conservé spécifiant l'Arg368 pour un codon stop (p.Arg368X), entrainant la délétion des 14 derniers acides aminés de la protéine. Cette mutation n'est pas présente chez les membres des familles ni 200 contrôles. L'expression de l'ARNm mutant a été démontrée par séquençage des produits d'amplification obtenus par RT-PCR à partir ARN extrait de lignées cellulaires lymphoblastiques de patients et celle de la protéine par analyse par Western blot d'extraits protéiques. Nous avons montré que cette mutation entraîne un gain de fonction de la PRKAR1A (effet dominant négatif), et de ce fait une perte d'activité de la PKA, à l'origine de la résistance hormonale et du phénotype osseux. Différentes chondrodysplasies/brachydactylies avec ou sans anomalies du métabolisme phosphocalcique sont causées par des mutations de gènes de la voie de signalisation PTH/PTHrP-GPCR- Gsa-cAMP- PKA. Le phénotype de ces pathologies, dont l'acrodysostose, illustre les rôles endocrines et paracrines assurés par le PTHR1, et souligne l'importance de la voie de signalisation Gsa-cAMP-PKA. Les raisons pour lesquelles le phénotype osseux est plus sévère dans l'acrodysostose que dans les syndromes de PHP/PPHP, alors que les résistances hormonales le sont moins, sont probablement multiples. Parmi celles-ci, on peut invoquer l'expression soumise à empreinte parentale de Gsa, et l'effet dominant négatif de la mutation PRKAR1A. Il reste à documenter si toutes les formes d'acrodysostose sont associées à une résistance hormonale et à une mutation de PRKAR1A, ou si des défauts d'autres gènes, en particulier de la voie de signalisation Gsa-cAMP-PKA, peuvent être impliqués.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P046 - RECHERCHE DE NOUVEAUX GENES IMPLIQUES DANS LES RETINITES PIGMENTAIRES AUTOSOMIQUES RECESSIVES

B Bocquet (1), M Hébrard (1), C Baudoin (2), G Manes (1), A Sénéchal (1), V Marquette (2), I Meunier (2), C Hamel (2)
1. INSERM U1051, Hôpital Saint Eloi-Gui de Chauliac, Montpellier, France
2. Centre National de Référence Maolya, Hôpital Saint Eloi-Gui de Chauliac, Montpellier, France

But: Les rétinites pigmentaires autosomiques récessives (arRP) sont des dystrophies héréditaires de la rétine caractérisées par la perte progressive des photorécepteurs prédominante en périphérie rétinienne. A l'heure actuelle, 34 gènes et 3 locis sont connus comme étant responsables d'environ 60% des cas d'arRP. Deux gènes majeurs, USH2A et EYS, répondent à environ 13 à 19 % des cas, les autres gènes étant minoritaires. Au total, environ 50 % des patients n'ont pas de mutations dans les gènes actuellement connus. Le but de cette étude est donc de découvrir de nouveaux gènes et loci responsables d'arRP.
Méthodes: 35 familles consanguines présentant une arRP ont été génotypées grâce à des marqueurs microsatellites afin d'exclure USH2A et EYS. Les familles résultants de ce criblage ont été analysées par puces SNP Affymetrix 6.0 grâce au logiciel TASE (Transmitted Allele Search Engine). Les gènes de RP connus dans les régions d'homozygotie ont été séquencés. L'exome complet est en cours d'analyse pour une famille présentant 2 régions homozygotes d'intérêts.
Résultats: Sur 35 familles consanguines génotypées, 10 familles sont homozygotes pour les marqueurs USH2A ou EYS. Les 25 familles restantes ont été ou sont en cours d'analyses des puces SNP 6.0. Nous avons déjà identifié une famille porteuse d'une nouvelle mutation homozygote dans le gène RP1, ainsi qu'une famille porteuse d'une mutation homozygote dans le gène NR2E3. Une famille semble être liée à IMPG2. Enfin, une famille présentant deux régions d'homozygotie de 106Mb et 98Mb respectivement sur les chromosomes 1 et 21, dans lesquelles aucun gène de RP n'est connu, est en cours de séquençage de l'exome complet.
Conclusions: Nous avons développé une stratégie d'analyse dans le but de chercher de nouveaux gènes responsables d'arRP. Cette stratégie est aujourd'hui complétée grâce aux nouvelles générations de séquençage qui permettent une analyse rapide des gènes dans une région d'intérêt. Nous devrions ainsi découvrir de nouveaux gènes d'arRP, indispensable pré-requis au futur traitement des patients.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P047 - LE SYNDROME DE MARFAN : ASPECTS PEDIATRIQUES A PARTIR DE L'EXPERIENCE DU CENTRE DE COMPETENCE DE RENNES

G Hubert-Le Dorze (1)
1. Génétique clinique, CHU Rennes, Rennes, France

Introduction : Le syndrome de Marfan (MFS), autosomique dominant, est la 2e maladie du tissu conjonctif après l'ostéogénèse imparfaite. Elle associe des manifestations cardio-vasculaires, ophtalmologiques, squelettiques et systémiques. Plusieurs classifications et scores tentent de regrouper ces symptômes insuffisamment sensibles et spécifiques pour reconnaître au mieux la maladie et le plus précocement possible. Aucun n'est satisfaisant, appliqué à la pédiatrie. La symptomatologie s'aggravant avec le temps, les enfants présentent le plus souvent des tableaux incomplets. Pourtant, une confirmation du diagnostic nécessite un suivi contraignant qu'on ne souhaite pas imposer à des enfants indemnes.

Patients et méthodes : Entre 1996 et 2010, 119 enfants ont été rencontrés en consultation de génétique pour suspicion de MFS : soit dans un cadre familial (30 cas), soit à cause de signes cliniques évocateurs. L'étude des dossiers était retrospective. 31 enfants sont étudiés comme présentant un MFS selon les critères de Ghent, 21 ont une mutation de FBN1, 1 de TGFBR1. Un enfant présentait un MFS néonatal. 32 sont potentiellement atteints, sans certitude, et sont suivis régulièrement dans un but diagnostique et pour assurer une prise en charge adaptée précoce. Pour 25 enfants le diagnostic est éliminé. 30 ont été perdus de vue.

Résultats et discussion : Les signes cliniques retrouvés chez les enfants atteints sont peu différents de ceux connus chez les adultes, alors qu'en pédiatrie, les difficultés diagnostiques persistent, parfois plusieurs années. Parmi les 32 enfants au diagnostic possible, l'ensemble des signes cliniques (sauf l'ectasie durale) est retrouvé, mais l'association complète de ceux-ci fait défaut, ce qui met en évidence les difficultés des praticiens pour conclure. L'identification d'une mutation dans un des principaux gènes (FBN1, TGFBR2, TGFBR1) est alors décisive. Parmi nos cas « possibles » la mutation de FBN1 n'a jamais été retrouvée. Dans la littérature, les enfants "possiblement atteints" ayant une mutation FBN1 retrouvée sont considérés comme atteints et inclus dans l'étude. L'intérêt d'un diagnostic pré-symptomatique est discuté.

Conclusion : Cette étude, et l'analyse de la littérature, illustrent les difficultés rencontrées en pratique, à poser à l'âge pédiatrique le diagnostic de MFS. Les enfants potentiellement atteints, avec des signes physiques présents dès l'âge pédiatrique mais insuffisants pour poser un diagnostic, présentant ou non une mutation de FBN1, doivent être suivis et inclus dans des études prospectives, pour que la connaissance des caractéristiques pédiatriques du MFS progresse. Nous insistons également sur la nécessité d'évoquer le diagnostic de façon précoce pour permettre un suivi rapproché et une prise en charge multidisciplinaire adaptée. Le suivi de cas incertains devra alors durer tout au long de la croissance.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P048 - OBSERVATION FAMILIALE DE SYNDROME DE RUBINSTEIN-TAYBI PAR MOSAÏCISME GERMINAL

A CASE REPORT OF GERMINAL MOSAICISM IN RUBINSTEIN-TAYBI SYNDROME

M Tajir (1), P Fergelot (2), G Lancelot (2), S Chafai Elalaoui (3), B Arveiler (4), D Lacombe (4), A Sefiani (5)

1. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Service de génétique médicale, CHU Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France
3. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
4. Service de génétique médicale, CHU Hôpital Pellegrin, Bordeaux, Maroc
5. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, Rabat, Maroc

Le syndrome de Rubinstein-Taybi est un syndrome dysmorphique rare, son incidence est estimée à 1/125 000 naissances vivantes et sa transmission est autosomique dominante. Il associe un retard mental, une dysmorphie faciale, des anomalies des extrémités, un retard de la croissance, des malformations diverses avec un risque accru de développer des tumeurs. Deux gènes sont décrits comme responsables de ce syndrome, le gène CREBBP dans 50% des cas et le gène EP300 dans 3% des cas. Dans la grande majorité des cas, il s'agit de néomutations et par conséquent le risque de récidive lors d'une grossesse ultérieure est très faible. Les familles ayant plus d'un enfant atteint de syndrome de Rubinstein-Taybi sont extrêmement rares. Nous rapportons dans ce travail l'observation d'une famille marocaine consanguine ayant deux enfants présentant un phénotype de syndrome de Rubinstein-Taybi. Il s'agit d'une famille ayant un enfant indemne, une fille de 19 ans et un garçon de 9 ans ayant tous les deux un retard de croissance, un retard mental et une dysmorphie caractéristique du syndrome de Rubinstein-Taybi. Par ailleurs, les parents sont indemnes et ne présentent cliniquement aucun signe du syndrome de Rubinstein-Taybi. L'étude moléculaire faite chez les deux enfants malades a montré qu'ils présentent tous les deux la mutation faux sens c.4361T>A (p.Leu145His) à l'état hétérozygote au niveau du gène CREBBP. Cependant, cette mutation n'a pas été retrouvée chez les parents au niveau des cellules hématopoïétiques et du frottis buccal. Devant cette situation, nous avons évoqué l'hypothèse du mosaïcisme germinal. Ce concept est d'une grande importance car il complique le conseil génétique de cette famille qui a un risque de récurrence de la mutation dans les grossesses ultérieures.

Mots-clés : mosaïcisme germinal, syndrome de Rubinstein-Taybi, CREBBP, conseil génétique.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P049 - HEMOCHROMATOSE : PROFIL DES PATIENTS C282Y/H63D INCLUS EN PROTOCOLE DE SAIGNEES

V Scotet (1), P Saliou (1), MC Mérour (2), C Berquier (2), AY Mercier (2), B Chanu (2), G Le Gac (3), C Férec (1)
1. U613, Inserm, Brest, France
2. EFS-Bretagne, Site de Brest, Brest, France
3. Laboratoire de génétique moléculaire, CHRU, Brest, France

Introduction : Caractérisée par une surcharge en fer, l'hémochromatose de type I est une maladie génétique complexe particulièrement fréquente dans les populations d'Europe du Nord. Elle est principalement associée au génotype C282Y/C282Y du gène HFE. Un second génotype – C282Y/H63D – a majoritairement été décrit chez les patients non C282Y homozygotes, mais l'association de ce génotype avec la pathologie demeure encore très discutée. La recherche de cette variation H63D, qui n'est plus prise en charge par l'assurance maladie, reste cependant une pratique courante. L'objectif de cette étude était de déterminer le poids du génotype C282Y/H63D chez les patients traités par saignées.

Méthodes : L'étude a été menée à partir des patients inclus en protocole de saignées dans le centre de santé brestois de l'Etablissement Français du Sang sur la période 2004-2007. Nous avons comparé le profil des patients C282Y/H63D et C282Y/C282Y en termes de degré de surcharge en fer et de prévalence de facteurs co-morbides associés (pouvant à eux-seuls entraîner une hyperferritinémie). Nous avons également déterminé la fréquence de ces génotypes dans la population d'étude et l'avons comparée à celle observée dans la population générale (à partir d'un échantillon de 797 donneurs du sang de notre département).

Résultats : Parmi les 325 patients pris en charge sur la période 2004-2007, 172 étaient C282Y/C282Y et 58 C282Y/H63D. Le groupe de patients C282Y/H63D comportait une proportion plus élevée d'hommes (70.8 vs. 56.4%, p=0,0574) et présentait un âge moyen au diagnostic plus tardif (56,9 vs. 49,3 ans, p inf. à 0,0001), comparativement aux patients C282Y/C282Y. Le génotype C282Y/H63D était également associé à un degré de surcharge en fer plus modéré, ce qui se traduisait par un coefficient de saturation de la transferrine inférieur (médiane : 52,0 vs. 84,0 %, p inf. à 0,0001) et une quantité de fer soustraire moindre (médiane : 2,1 vs. 3,4 g, p inf. à 0,0001), ce pour des concentrations de ferritine similaires. Les facteurs d'environnement étaient aussi significativement plus fréquents chez ces patients (consommation excessive d'alcool : 26,0 % vs. 13,9 %, p=0,0454 ; surpoids : 66,7 % vs. 39,4 %, p=0,0005). Par ailleurs, en termes de fréquences, si le génotype C282Y/H63D était 4,9 fois plus fréquent que le génotype C282Y/C282Y dans la population finistérienne (4,3 vs. 0,9 %), il était 2,9 fois moins fréquent chez les patients en protocole de saignées (18,9 vs. 56,0 %). Par conséquent, ce génotype était 14 fois moins fréquemment observé qu'attendu en considérant un impact comparable à celui du génotype C282Y/C282Y (OR=0,07 [0,03-0,17], p inf. à 0,0001).

Conclusion : Cette étude confirme le poids très relatif du génotype C282Y/H63D dans la survenue d'une surcharge en fer. Le variant H63D est donc un discret facteur génétique de susceptibilité dont l'expression est surtout visible en association avec d'autres cofacteurs comme le surpoids et/ou l'alcool.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P050 - ASPECTS NEURORADIOLOGIQUES (IRM ANATOMIQUE ET VOXEL BASED MORPHOMETRY) DANS LA FORME INFANTILE DE LA MALADIE DE STEINERT: UNE SERIE DE 10 PATIENTS.

NEURORADIOLOGIC FINDINGS IN A SERIES OF 10 PATIENTS WITH CHILDHOOD-ONSET FORM OF DM1

A JACQUETTE (1), H LEMAITRE (2), N ANGEARD (3), B EYMARD (4), S WHALEN (5), F BRUNELLE (6), M ZILBOVICIUS (2), D HERON (5), N BODDAERT (6)

1. département de génétique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. service de radiologie pédiatrique, Hôpital Necker enfants malades, Paris, France
3. Institut de Myologie, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Institut de myologie, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Département de génétique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
6. Service de radiologie pédiatrique, Hôpital Necker enfants malades, Paris, France

La dystrophie myotonique de Steinert (DM1) est une affection neuromusculaire autosomique dominante due à une expansion anormale de triplets CTG dans la région 3' du gène MDPK.
On distingue habituellement 4 formes clinques de la maladie en fonction de l'âge de début (congénitale, infantile, adulte « classique », tardive).
Dans la forme infantile, qui débute entre l'âge de 1 et 10 ans, les symptômes neuromusculaires, qui font habituellement évoquer le diagnostic dans la forme classique de la maladie, sont discrets voire absents. Les principales manifestations de cette forme sont « centrales » : fatigue, lenteur, hypersomnie, difficultés d'apprentissages et troubles cognitifs spécifiques.
Cependant, les données de neuroimagerie chez les enfants atteints de cette forme sont quasi-inexistantes et nous avons donc souhaité savoir si ces patients avaient une imagerie cérébrale anormale en rapport avec la spécificité de leur atteinte clinique.

Patients et méthode :
10 patients âgés de 8 à 24 ans (18.5 ± 5) présentant une forme infantile de la maladie (exclusion des formes congénitales) ont participé à l'étude. Ils ont été recrutés au cours d'une visite de suivi, soit à l'institut de myologie, soit à la consultation de génétique (Pitié-Salpêtrière). Tous les patients ont bénéficié d'un examen clinique et d'une évaluation neuropsychologique. Le diagnostic était confirmé par biologie moléculaire (nombre moyen de CTG : 621 ± 325). Seul un patient présentait une déficience intellectuelle (légère).
Une IRM anatomique a été réalisée pour tous les patients (1.5 Tesla). Les IRM ont ensuite été traitées pour 9 patients et 18 sujets contrôles avec le logiciel SPM8 (logiciel Gaser de morphométrie) permettant le calcul des volumes de substance grise (SG), de substance blanche (SB), de LCR et du volume cérébral total pour chaque patient.

Résultats et discussion:
7 patients sur 10 présentent des hypersignaux en T2 dans les pôles temporaux associés à des anomalies en VBM des mêmes régions (augmentation significative du volume de la SG et une diminution du volume de la SB). Ces anomalies ne sont pas semblables à celles déjà décrites dans les formes congénitales de DM1, qui consistent essentiellement en une atrophie cérébrale et une dilatation ventriculaire. Elles diffèrent également des hypersignaux décrits dans les formes classiques de DM1 par leur localisation préférentielle aux pôles temporaux. En raison du petit nombre de patients inclus dans l'étude, il est encore impossible de dire si ces anomalies peuvent correspondre à un phénotype radiologique spécifique lié à cette forme de la maladie ou s'il s'agit de l'expression précoce de l'atteinte habituellement décrite sans la forme classique de

la maladie. Des études de corrélation entre données radiologiques et neuropsychologiques sont en cours. Un suivi longitudinal de ces patients est indispensable.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P051 - ANEVRISME DE L'AORTE ASCENDANTE ET ARTHROSE PRECOCE : UN NOUVEAU SYNDROME DU SPECTRE DU MARFAN

M AUBART (1), N HANNA (2), D GOBERT (3), H D'INDY (2), C MUTI (4), J ROUME (4), V CUSIN (4), B GRANDCHAMP (4), L GOUYA (4), A EL-BOUBKARI (4), D DETAINT (4), G JONDEAU (4), C BOILEAU (1)

1. U698, INSERM, Paris, France
2. Laboratoire de Biochimie et de Génétique Moléculaire, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France
3. Service de Médecine Interne, Hôpital Bichat, Paris, France
4. Centre National de Référence "Marfan et apparentés", Hôpital Bichat, Paris, France

Les anévrismes de l'aorte thoracique ascendante (AAA) sont associés à une prédisposition génétique dans 20% des cas : moins de 5 % sont des formes syndromiques (Marfan, Ehlers-Danlos, Loeys-Dietz) et plus de 15 % des formes isolées et familiales. Les travaux de recherche de cette dernière décennie ont permis de poursuivre le démembrement de ces formes. Une grande hétérogénéité génétique a été mise en évidence avec implication de mutations dans tous les gènes associés initialement aux formes syndromiques (FBN1, TGFBR1, TGFBR2) et de nouveaux gènes (ACTA2 et très rarement MYH11). Récemment, les premières mutations dans le gène SMAD3 ont été identifiées dans des formes familiales d'AAA à transmission autosomique dominante, et secondairement associées à des anévrismes des artères cérébrales et une arthrose parfois précoce. Pour évaluer la fréquence de ce nouveau syndrome parmi les AAA, le gène SMAD3 a été séquencé chez 105 proposants présentant un AAA, (dont 35% correspondent à des forme familiales avérées), et pour lesquels la recherche de mutations dans les autres gènes connus était négative (FBN1, TGFBR1, TGFBR2, ACTA2). Huit mutations ont été retrouvées : 3 mutations conduisant à un codon stop prématuré, 4 mutations faux-sens, et 1 mutation intronique induisant une modification du site d'épissage. Les 4 mutations faux-sens entrainent une modification du domaine actif MH2 de la protéine, et conduisent à une dysrégulation de la transmission du signal TGF-β dans les cellules de la matrice extra-cellulaire. Au total, après enquête familiale, une mutation a été retrouvée chez 35 sujets appartenant à 8 familles. Le bilan clinique de ces patients retrouve une atteinte vasculaire proche de celle du syndrome de Loeys-Dietz (mutation des gènes TGFBR1 ou TGFBR2) avec dilatation ou dissection de l'aorte thoracique ascendante dans 66% des cas (23/35), tortuosité artérielle dans 67% des cas (10/15) et anévrisme des moyennes artères dans 60% des cas (9/15). La fréquence des signes squelettiques habituellement associés au syndrome de Marfan est supérieure à la population générale et proche de ce qui est observé chez les sujets porteurs de mutations dans le gène TGFBR2, mais moins marquée que chez ceux porteurs d'une mutation dans le gène FBN1. Par ailleurs, aucune atteinte ophtalmologique n'a été observée. Enfin et de façon très caractéristique, une arthrose de gravité variable est retrouvée chez tous les sujets âgés de plus de 30 ans. La précocité et l'évolution de cette atteinte cartilagineuse de type destructrice ne pourront être précisées que dans des études longitudinales. Toutefois, il est recommandé dès maintenant de rechercher cette atteinte articulaire de façon systématique chez tout sujet AAA pour permettre une exploration et une prise en charge adaptée des atteintes artérielles, une surveillance de l'atteinte articulaire et orienter le diagnostic moléculaire.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P052 - SYNDROME DE SETLEIS : A PROPOS D'UNE NOUVELLE OBSERVATION ET REVUE DE LA LITTERATURE.

SETLEIS SYNDROME: NEW CASE AND REVIEW OF LITTERATURE

S Chafai Elalaoui (1), M Mansouri (2), J Lyahyai (3), A Sefiani (4)

1. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc
2. Département de gentique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
3. Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, Université Mohamed V Souissi, Rabat, Maroc
4. Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc

La dysplasie focale dermique du visage (Focal Facial Dermal Dysplaisa FFDD) est un groupe de syndromes génétiques caractérisé par des lésions bitemporales cicatricielles ressemblant à des marques de forceps. Trois sous-types ont été décrits sur la base des signes cliniques: FFDD type I ou syndrome de Brauer (MIM 136500), transmise selon un mode autosomique dominant, avec seulement les lésions bitemporales caractéristiques, la FFDD type II (MIM 227260) ayant les mêmes signes cliniques que FFDD I mais transmise selon le mode autosomique récessif, et la FFDD type III, ou syndrome de Setleis (MIM 227260), décrit pour la première chez des patients consanguins Portoricains par Setleis et al en 1963. Ce syndrome est caractérisé par des lésions bitemporales bilatérales, et une dysmorphie faciale avec absence de cils, anomalie de la paupière supérieure, ainsi que d'autres signes. Le gène en cause a été récemment identifié en 2010, il s'agit du gène TWIST2. Trois mutations à l'état homozygote c.486C>T [p.Q119X], la c.324C>T [p.Q65X], et une troisième mutation récemment identifiée en Septembre 2011, il s'agit de la c.168delC [p.SS7AfsX45]. Ces trois mutations sont à l'origine d'une protéine tronquée.

Nous rapportons ici l'observation d'un garçon de 9 ans, consanguin, aîné d'une fratrie de deux. La soeur aînée et les parents sont sains. Il présente un retard statural à -2DS et une dysmorphie faciale avec une basse implantation des cheveux au niveau du front, des lésions bitemporales bilatérales, des dépressions cicatricielles au niveau du côté gauche du menton, des cils peu fournis au niveau de la paupière inférieure, un philtrum court, un nez bulbeux, et des oreilles bas implantées orientées en arrière. Par ailleurs, il présente des taches linéaires hypopigmentées au niveau du tronc et du cou, des mamelons hyperpigmentées avec un mamelon surnuméraire à gauche, et une hypoplasie thénar à droite. A travers cette observation, nous faisons le point sur le syndrome de Setleis, et nous comparons notre cas avec ceux déjà décrits dans la littérature.

Mots clés : syndrome de Setleis, lésions bitemporales, gène TWIST2

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P053 - NOUVELLE MUTATION DU GENE EDNRB ASSOCIEE AU SYNDROME DE WAARDENBURG TYPE IV.

NEW MUTATION OF EDNRB GENE ASSOCIATED WITH WAARDENBURG SYNDROME TYPE IV.

Y Doubaj (1), S Chafai Elalaoui (2), V Pingault (3), I Ratbi (4), H Azzouz (5), H Zerhouni (5), A Sefiani (6)

1. Département de gentique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc
3. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Henri Mondor, Paris, France, Paris, France
4. Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc
5. Service de chirurgie pédiatrique, Hôpital d'Enfants, Rabat, Maroc
6. Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc

Les syndromes de Waardenburg sont un groupe de syndromes associant une surdité neurosensorielle à des anomalies de pigmentation. Leur incidence est estimée à 1/270000 naissances vivantes. Ce groupe de syndromes est subdivisé en quatre sous-types (de 1 à 4), selon les signes associés. Le syndrome de Waardenburg type 4 ou Waardenburg-Shah est défini par la présence de la maladie de Hirshprung en plus de la surdité et des anomalies de la pigmentation. La prévalence est inconnue, plus de 50 cas ont été décrits dans la littérature. Les patients atteints n'ont pas de dysmorphie faciale et le développement psychomoteur est normal. Le diagnostic différentiel inclut les autres formes du syndrome de Waardenburg ainsi que d'autres affections rares tel que le syndrome ABCD.

Sur le plan génétique, le syndrome de Waardenburg-Shah est caractérisé par une hétérogénéité génétique avec une expression clinique variable. Jusqu'à ce jour, trois gènes ont été identifiés : EDNRB, EDN3 et SOX10. La transmission de la maladie est autosomique récessive en cas de mutations dans les gènes EDNRB et EDN3. Les mutations du gène SOX10 sont transmisses selon un mode autosomique dominant et certaines mutations dans ce gène sont associées à un phénotype plus sévère appelé PCWH avec une neuropathie démyélinisante centrale et périphérique.

Nous rapportons dans ce travail, le cas d'un nourrisson de sexe féminin, âgée de 3 mois, consanguine, suivie pour maladie de Hirschprung et présentant des yeux bleus avec une mèche blanche. La patiente a trois cousins avec la même symptomatologie, tous décédés en bas âge. Par ailleurs d'autres membres de la famille ont une expression clinique minime à type de troubles de pigmentation au niveau de l'iris (yeux bleus) et au niveau des cheveux (mèche blanche). L'étude moléculaire a montré la présence de la variation de séquence c.1133A>G (p.Asn378Ser) au niveau du gène EDNRB à l'état homozygote. Cette variation de séquence a été retrouvée à l'état hétérozygote chez les parents et les parents des cousins décédés avec le même tableau clinique. La recherche cette mutation chez 100 témoins afin de confirmer le caractère délétère de cette mutation est en cours.

Mots clés : Syndrome de Waardenburg, gène EDNRB, nouvelle mutation.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P054 - FORME RARE D'AMELOGENESE IMPARFAITE ET HYPERPLASIE GINGIVALE : A PROPOS DE DEUX NOUVEAUX CAS.

RARE AMELOGENESIS IMPERFECTA AND GINGIVAL HYPERPLASIA: ABOUT TWO NEW CASES.

S Chafai Elalaoui (1), M Elalloussi (2), K Zouaidi (3), J Lyahyai (4), F Zerouaoui (5), A Sefiani (6)

1. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc
2. Service d'odontologie pédiatrique, Faculté de médecine dentaire, Rabat, Maroc
3. Service d'odontologie pédiatrique, Faculté de médecine dentaire, Rabat, Maroc, Rabat, Maroc
4. Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, Université Mohamed V Souissi, Rabat, Maroc
5. Sevice d'orthodentie, Faculté de médecine dentaire, Rabat, Maroc
6. Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc

L'amélogenèse imparfaite (AI) est une anomalie de structure de l'email d'origine héréditaire, touchant toutes les dents. L'AI est caractérisée par une hétérogénéité clinique et génétique, avec au moins 14 sous-types transmis selon le mode autosomique dominant, autosomique récessif, et récessif lié à l'X. Jusqu'à ce jour, six gènes (AMELX, ENAM, MMP20, KLK4, FAM83H, et WDR72) ont été impliqués dans des formes non syndromiques d'AI. Des mutations dans deux gènes supplémentaires pour les AI syndromique ont été décrits, le gène DLX3 dans le syndrome tricho-dento-osseux et le gène CNNM4 dans le syndrome de Jalili.

Récemment, une large famille consanguine a été rapportée par Martelli junior et al en 2008 avec plusieurs membres atteints d'une nouvelle forme avec une amélogénèse imparfaite hypoplasique, et une hyperplasie gingivale associée à des anomalies dentaires surtout un retard d'éruption dentaire. L'exome sequençing a permis en Mai 2001 de mettre en évidence la mutation homozygote c.406C> T au niveau l'exon 2 du gène FAM20A (MIM 611062), qui aboutit à la mutation non-sens homozygote p.Arg136X. Bien que fonction du gène FAM20A est encore inconnue, ces résultas ainsi que les localisations tissulaires montrent que FAM20A joue un rôle fondamental dans le développement de l'émail et l'homéostasie gingivale.

Nous rapportons dans ce travail, les observations de deux familles marocaines consanguines ayant une amélogénèse imparfaite et hypertrophie gingivale avec rétention de plusieurs dents permanentes. La première patiente est une fille de 10 ans, 3ème d'une fratrie de quatre. La deuxième patiente, âgée de 21 ans, dernière d'une fratrie de 4, elle a un frère aîné de 26 ans ayant la même symptomatologie. A travers ces observations, nous faisons le point sur l'amélogénèse imparfaite avec hypertrophie gingivale, et nous comparons nos deux cas à ceux déjà décrits dans la littérature.

Mots clés: amélogénèse imparfaite, hypertrophie gingivale, gène FAM20A

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P055 - ANALYSE MOLECULAIRE DE 263 PATIENTS AVEC ALBINISME OCULOCUTANE.

F MORICE-PICARD (1), E LASSEAUX (2), A ROUAULT (2), C ROORYCK (1), D CAILLEY (2), C PLAISANT (2), A TAIEB (3), D LACOMBE (1), B ARVEILER (1)

1. Service de Génétique Médicale, Laboratoire Maladies Rares: Génétique et Métabolisme, Université Bordeaux, CHU de Bordeaux, BORDEAUX, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, BORDEAUX, France
3. Service de Dermatologie et Dermatologie Pédiatrique, CHU de Bordeaux, BORDEAUX, France

L'albinisme oculocutané (OCA) est une maladie autosomique dominante rare qui affecte 1/20000 personne dans la population. L'AOC est causé par des mutations des gènes TYR (OCA1), P (OCA2), TYRP1 (OCA3), et SLC45A2 (OCA4). Les mutations of GPR143 sont responsables d'albinisme oculaire lié à l'X (OA1). L'hétérogénéité génétique et l'absence de corrélation génotype-phénotype rend nécessaires les études moléculaires pour établir le diagnostic et évaluer les fréquences relatives des quatre types d'AOC. Nous avons analysé 263 patients originaires de différents pays (France métropolitaine et DOM-TOM, Belgique, Espagne, Italie, Allemagne, Pays-Bas, Royaume-Uni, Turquie, Iran, Cameroun, Maroc, Brésil, Chine). Une analyse extensive des gènes OCA1-4 et OA1 a été réalisée : recherche de mutations ponctuelles (non sens, faux sens, épissage, in/del) par DHPLC/HRM et séquençage des exons, jonctions introns-exons et promoteurs ; recherche de délétions et duplications intragéniques par CGH-array avec une puce à très haute résolution (1 oligonucléotide tous les 100 à 200 bases) couvrant les 5 gènes. Nous avons identifié 200 mutations ponctuelles dans TYR, 110 dans OCA2, 12 dans TYRP1, 55 dans SLC45A2, et 13 dans GPR143. Nous avons par ailleurs trouvé 3 délétions de TYR, 24 délétions et 2 duplications d'OCA2, et 3 délétions de SLC45A2. Les microréarrangements représentent donc 7.6% des allèles OCA1-4 (18.5% des allèles OCA2).

Les patients se répartissent de la façon suivante: 36% OCA1, 24% OCA2, 2%OCA3, 11% OCA4, 5% OA1.

Malgré l'analyse extensive réalisée, seuls 78% des patients ont bénéficié d'un diagnostic, puisque chez 7% des patients, une seule mutation a été identifiée, et chez 15% aucune mutation n'a été trouvée. Les mutations manquantes pourraient être localisées dans les régions non explorées des 5 gènes (introns, éléments régulateurs distants), dans les gènes impliqués dans des formes syndromiques d'albinisme, ou dans de nouveaux gènes restant à découvrir.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P056 - NOUVEAU SYNDROME CARACTERISE PAR UNE AMELOGENESE IMPARFAITE ET UNE DYSMORPHIE FACIALE CHEZ UNE FAMILLE MAROCAINE CONSANGUINE.

NEW SYNDROME OF AMELOGENESIS IMPERFECTA AND FACIAL DYSMORPHY IN A MOROCCAN CONSANGUINEOUS FAMILY.

S Chafai Elalaoui (1), M Elalloussi (2), K Zouaidi (3), J Lyahyai (4), I Cherkaoui Jaouad (5), A Sefiani (6)

1. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc
2. Service d'odontologie pédiatrique, Faculté de médecine dentaire, Rabat, Maroc
3. Service d'odontologie pédiatrique, Faculté de médecine dentaire, Rabat, Maroc, Rabat, Maroc
4. Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, Université Mohamed V Souissi, Rabat, Maroc
5. Département de gentique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
6. Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc

L'amélogénèse imparfaite (AI) peut être isolée ou syndromique. Plusieurs syndromes ont été décrits associés à l'AI : le syndrome tricho-dento-osseux, syndrome de Jalili (rétinite pigmentaire associée), syndrome de Heimler (anomalie des ongles et surdité associées), syndrome de Johnson (alopécie, anosmie et surdité associés), syndrome de Kohlschutter Tonz (épilepsie et démence associés), ou associées à une néphrocalcinose, platyspondylie

Nous rapportons dans ce travail et pour la première fois l'observation d'une famille marocaine consanguine avec deux enfants (une fille de 14 ans et d'un garçon de 11 ans) ayant une amélogénèse imparfaite et dysmorphie faciale. Dans les antécédents familiaux, on note un frère décédé à 3 mois de vie avec la même dysmorphie faciale. Le patient, âgé de 11 ans, a eu une souffrance néonatale à l'accouchement, n'a pas eu de retard des acquisitions psychomotrices, mais a des problèmes d'élocution, et il est suivi depuis l'âge de 5 ans pour épilepsie, suite à des convulsions fébriles. Il présente un retard mental modéré. A l'examen, ses mensurations sont normales, il présente une dysmorphie faciale, avec des fentes palpébrales en orientation anti-mongoloïde, des narines antéversées, une base du nez aplatie, un philtrum long, un prognathisme, des pouces larges, des pieds plats, de larges orteils. L'examen bucco dentaire a mis en évidence une amélogénèse imparfaite hypocalcifiée sur les dents permanentes et temporaires, et des freins médians et latéraux hypertrophiques. La sœur aînée atteinte, n'a pas de retard mental, elle présente la même dysmorphie faciale, a les mêmes anomalies dentaires et n'a pas d'épilepsie.

Il s'agit là du premier syndrome décrit associant une amélogénèse imparfaite et une dysmorphie faciale. La récurrence de ce syndrome chez la fratrie de sexe féminin et masculin, ainsi que la consanguinité, sont fortement en faveur d'un mode de transmission autosomique récessif.

Mots clés : nouveau syndrome, amélogénèse imparfaite, dysmorphie faciale.

POSTER
1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P057 - MUTATION P.E138K DU GENE LMNA CHEZ UNE PATIENTE PRESENTANT UNE PROGERIA ATYPIQUE.

P.E138K MUTATION OF LMNA GENE IN A PATIENT WITH ATYPICAL PROGERIA.

Y Doubaj (1), A De Sandre-Giovannoli (2), V Esteves-Vieira (2), S Chafai Elalaoui (3), N Lévy (2), A Sefiani (4)
1. Département de gentique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Département de Génétique Médicale et Biologie Cellulaire, Hôpital la Timone Enfants, Marseille, France, Marseille, France
3. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc
4. Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc

La Progéria ou syndrome d'Hutchinson-Gilford (HGPS) est une maladie génétique rare, de transmission autosomique dominante dont la prévalence est estimée à 1/4- 8000000. Le gène responsable de la maladie est le gène LMNA localisé en 1q21.2, composé de 12 exons, et codant pour les protéines lamines A et C qui constituent des composants structurels essentiels du noyau. Plus de 10 maladies héréditaires touchant différents tissus ont été identifiées comme étant liées de façon directe ou indirecte à la dysfonction des Lamines A/C. Outre la progéria et les autres formes rares de vieillissement prématuré (syndrome de Werner atypique, dysplasie acromandibulaire, dermopathie restrictive), les laminopathies incluent la dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss, la myopathie des ceintures de type 1B, la cardiomyopathie dilatée associée à des troubles de la conduction cardiaque, la maladie de Charcot-Marie-Tooth type 2B1, et la lipodystrophie partielle familiale type Dunnigan. Ces pathologies se caractérisent par un spectre large de troubles musculaires, cardiaques, neurologiques, osseux ou cutanés.
Le diagnostic de la forme classique d'HGPS est à la fois clinico-radiologique et moléculaire par la recherche de la mutation récurrente du gène LMNA p.Gly608Gly retrouvée dans la majorité des cas. D'autres mutations hétérozygotes du gène LMNA (p.T10I, p.A57P, p.L59R, p.R133L, …) ont été rapportées dans des syndromes progéroides dits «atypiques» dont le spectre clinique varie de la dysplasie acro-mandibulaire au syndrome de Werner atypique. Ces patients présentent soit un tableau clinique plus atténué que celui décrit dans la forme classique, soit un phénotype progéroïde associant d'autres signes et incluant des anomalies cardiaques valvulaires, une hypoplasie mandibulaire, des contractures en flexion des articulations, une intolérance au glucose, des calcifications ou une surdité. La symptomatologie débute à un âge relativement plus tardif par rapport à la Progeria classique et ces patients semblent vivre plus longtemps.
Nous rapportons ici l'observation d'une patiente marocaine non consanguine, présentant un phénotype progéroide avec atteinte cardiaque sévère. L'étude moléculaire a révélé la présence de la mutation c.412G>A (p.E138K) au niveau de l'exon 2 du gène LMNA. Cette même mutation a été retrouvée chez le père cliniquement asymptomatique. L'étude moléculaire est en cours pour rechercher un éventuel mosaicisme somatique chez le père. Cette mutation a été déjà rapportée chez trois patients atteints de progéria atypique mais il s'agissait de cas sporadiques et la mutation était de novo.

Mots clés : Progéria atypique, Progeria, HGPS, LMNA, Lamines, vieillissement

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P058 - A NOVEL TYPE OF CONGENITAL HYPOCHROMIC ANEMIA ASSOCIATED WITH A NONSENSE MUTATION IN THE STEAP3/TSAP6 GENE.

C Kannengiesser (1), C Oudin (1), E Kohne (2), C Beaumont (3), P Nielsen (4), S Rodrigues-Ferreira (5), R Amson (5), A Telerman (5), C Balser (6), H Heimpel (7), B Grandchamp (1)

1. Génétique, Hôpital Bichat, PARIS, France
2. Department of Pediatrics, University of Ulm, Ulm, Allemagne
3. INSERMU773, Université Paris Diderot, PARIS, France
4. Institute of Biochemistry, University of Hamburg, Hamburg, Allemagne
5. LBPA, UMR 8113, Ecole Normale Supérieure, Cachan, France
6. Practice of Hematology, Hospital of Marburg, Marburg, Allemagne
7. Department of Internal Medicine III, University of Ulm, Ulm, Allemagne

STEAP3/TSAP6 encodes a ferrireductase that is involved in the acquisition of iron by developing erythroblasts and STEAP3/TSAP6 null-mice display severe microcytic anemia. We report a family in which three siblings born to healthy parents display transfusion-dependent hypochromic anemia. A nonsense STEAP3/TSAP6 was identified in the siblings at the heterozygous state. This mutation was inherited from their father while no mutation was found in their mother. A large variability of expression was found between normal alleles in a control population, confirming a previous report that STEAP3/TSAPS6 is an expressed quantitative trait locus (e QTL). Determination of the relative allele expression showed that the “normal” allele was expressed at a significantly higher level in the father than in the affected siblings relative to the shared mutated allele. The blood level of STEAP3/TSAP6 mRNA was severely reduced in the siblings, while both parents were in the lower range of normal controls. The STEAP3/TSAP6 protein was also reduced in lymphocytic cell lines from the patients. Collectively, our data support the hypothesis that STEAP3/TSAP6 deficiency leads to severe anemia in the affected siblings and results from the combination of a mutated allele inherited from their father and a weakly expressed allele inherited from their mother.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P059 - ANALYSE MOLECULAIRE DU GENE OA1 CHEZ DES PATIENTS AVEC ALBINISME OCULAIRE.

E LASSEAUX (1), F MORICE-PICARD (2), A ROUAULT (1), C CASTAING (1), D CAILLEY (1), C PLAISANT (1), C ROORYCK (2), C HAMEL (3), D LACOMBE (2), B ARVEILER (2)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, BORDEAUX, France
2. Service de Génétique Médicale, Laboratoire Maladies Rares: Génétique et Métabolisme, Université Bordeaux, CHU de Bordeaux, BORDEAUX, France
3. Centre de référence d'Affections Sensorielles Génétiques, CHU de Montpellier, MONTPELLIER, France

Les mutations dans le gène OA1 sont responsables de la principale forme d'albinisme oculaire, affection liée à l'X et caractérisée par un nystagmus congénital, une baisse d'acuité visuelle sévère, une hypopigmentation rétinienne et une hypoplasie fovéale.

Nous avons réalisé l'analyse moléculaire du gène OA1 chez des patients de sexe masculin présentant une symptomatologie d'albinisme oculaire et un mode de transmission compatible avec une hérédité liée à l'X. Un examen ophtalmologique et une analyse moléculaire des mères des patients étaient également réalisés quand cela était possible. Nous avons recherché des mutations ponctuelles par séquençage direct des 9 exons du gène OA1 et des jonctions intron-exon et des microréarrangements par CGH array haute résolution spécifique du gène OA1.

L'analyse du gène OA1 a été réalisée chez 13 patients de sexe masculin provenant de 11 familles différentes. Nous avons identifié 5 mutations faux-sens, 3 mutations non-sens, 2 duplications et une délétion. 7 mutations n'avaient jamais été décrites. Nous n'avons pas identifié de grande délétion. La mutation était retrouvée à l'état hétérozygote chez 6 des 7 mères testées. Un patient présentait une mutation survenue de novo.

L'association du séquençage direct du gène OA1 et de la CGH-array ciblée dans la stratégie diagnostique de l'albinisme oculaire nous permet de rechercher à la fois les mutations ponctuelles et les microréarrangements du gène. Nous avons identifié 6 nouvelles mutations. Cette étude valide la stratégie diagnostique qui consiste à tester en première intention OA1 chez des patients de sexe masculin avec un albinisme oculaire typique et une histoire familiale évocatrice d'hérédité liée à l'X. Chez deux de nos patients, en l'absence d'histoire familiale, les gènes d'albinisme oculo-cutané avait été analysés en première intention.

L'identification d'une mutation dans le gène OA1 est un élément important dans la prise en charge et dans le conseil génétique à apporter aux familles.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P060 - MUTATION NON-CODANTE ET CONSEQUENCE STRUCTURALE DANS LA CHONDRODYSPLASIE METAPHYSAIRE

I Cherkaoui Jaouad (1), FZ Laarabi (2), S Chafai Elalaoui (2), S Lyonnet (3), A Henrion Caude (4), A Sefiani (2)

1. Département de génétique médicale, Institut national d'hygiène, rabat, Maroc
2. Département de génétique médicale, institut national d'hygiène, rabat, Maroc
3. Département de génétique, Hôpital Necker enfants malades, Paris, France
4. INSERM UMR-781, Hôpital Necker enfants malades, Fondation Imagine, Paris, France

La chondrodysplasie métaphysaire autosomique récessive (CMAR ou cartilage hair hypoplasia) est une maladie génétique très rare et caractérisée par une chondrodysplasie métaphysaire, une petite taille, des cheveux rares et un déficit immunitaire. Cette maladie est liée à des mutations du gène RMRP (RNA component of the mitochondrial RNA processing), localisé en 9p21-p12, qui appartient aux gènes non-codants (ncRNA).

Nous présentons dans ce travail les données cliniques et moléculaires d'une patiente marocaine atteinte de chondrodysplasie métaphysaire autosomique récessive. Le séquençage du gène RMRP nous a permis d'identifier une hétérozygotie composite constituée: d'une mutation g.97G>A précedemment rapportée comme mutation délétère et d'une variation g.27G>C, qui n'a jamais été rapportée comme mutation pathogène. L'origine parentale de chaque mutation a été confirmée.

Du fait du caractère non-codant de ce gène, la pathogénicité de toute nouvelle mutation n'est habituellement pas prédite. Nous proposons ici une approche qui pourrait permettre de support pour comprendre l'hétérogénéité allélique de cette pathologie et identifier les polymorphismes du gène RMRP. Pour cela, nous avons procédé à une comparaison des caractéristiques des structures primaires et secondaires des séquences mutées RMRP. Nous avons ainsi pu caractérisé que la nouvelle mutation g.27G>C provoquait une interruption de l'appariement des bases, qui entraînait une déficience du domaine P3 hautement conservé. Ce travail nous permet de considérer les conséquences de toute nouvelle variation nucléotidique du gène RMRP, dans les structures hautement conservées, pour pouvoir établir des corrélations génotype-phénotype.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P061 - L'HYPERTHERMIE D'EXERCICE ET L'HYPERTHERMIE PERANESTHESIQUE ONT ELLES UN DETERMINANT MOLECULAIRE COMMUN ?

M Aubert (1), D Bendahan (2), C Brosset (1), PJ Cozonne (3), D Figarella-Branger (4), C Foutrier-Morello (3), S Gazzola (1), G Kozak-Ribbens (3), J Lunardi (5), N Monnier (6)

1. Service de Neurologie, Hôpital d'Instruction des Armées Lavéran, Marseille, France
2. Centre de Résonance Magnétique Biologique et Médical, UMR CNRS, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France
3. Centre de Résonance Magnétique Biologique et Médical, UMR CNRS 6612, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France
4. Service d'Anatomie-Pathologie, Hôpital de la Timone, Marseille, France
5. Biochimie et Génétique Moléculaire & INSERM U-836, CHU de Grenoble, Grenoble, France
6. Biochimie Génétique et Moléculaire & INSERM U-836, CHU Grenoble, Grenoble, France

L'hyperthermie d'exercice (HE) est un syndrome complexe caractérisé par une élévation de la température centrale induite par exercice. L'HE est fréquemment accompagnée de troubles neurologiques pouvant aller jusqu'au coma et d'une rhabdomyolyse. L'hyperthermie peranesthésique (HM) est une maladie pharmacogénétique de transmission dominante qui se développe lors d'une exposition aux agents anesthésiques halogénés. Ce syndrome est lui aussi caractérisé par une élévation importante de la température centrale et un hypermétabolisme avec rigidité musculaire, acidose métabolique, hypercapnie. Les sujets à risque de développer une HM peuvent être dépistés grâce à un test pharmacologique de susceptibilité à l'halothane et à la caféine réalisé sur une biopsie musculaire (IVCT). Les patients susceptibles sont dits MHS. Par ailleurs, des mutations dans deux gènes contrôlant l'homéostasie calcique dans le muscle, RYR1 et CACNA1S, ont été associées à la HM.

Dans les deux situations, HE ou HM, l'absence d'une prise en charge médicale adaptée des patients peut se traduire par des séquelles graves irréversibles voire conduire au décès du patient.

La similitude d'une grande partie des signes cliniques observés dans ces deux syndromes et le fait qu'un nombre significatif de patients HE se révèle être diagnostiqué comme susceptible à l'HM par IVCT a conduit à s'interroger sur une cause moléculaire commune aux deux syndromes. Les études reportées dans la littérature à ce jour, réalisées sur un nombre limité de patients dont le phénotype clinique n'était pas homogène et n'ayant fait l'objet que d'une étude partielle du gène RYR1, n'ont pas permis de répondre à cette question.

Au cours de la période 2004-2006, 182 patients militaires ont été adressés au service de neurologie de l'HIA Lavéran à la suite d'une HE. La réalisation du test IVCT chez ces patients à montré que près de 50% des patients avaient une réponse anormale avec 15% d'entre eux diagnostiqués comme susceptibles à l'HM (patients MHS). Il est à noter que ce pourcentage est significativement plus élevé que celui prédit dans la population générale.

Nous avons réalisé une étude exhaustive des gènes codant les protéines majeures du complexe de mobilisation du calcium (RYR1, CASQ1, FKBP12, CACNA1S, CACNA1B, TRDN) dans le muscle squelettique sur une population de 23 patients HE soigneusement sélectionnés au plan clinique (même type d'exercice, classe d'âge homogène, crise HE avec troubles neurologiques) et au plan pharmacologique (tous les patients ont été définis comme étant MHS par le test pharmacologique. Les muscle des patients ont par ailleurs été analysés au plan anatomo-pathologique et ont fait l'objet d'une exploration métabolique par spectroscopie RMN.

Les études de corrélations entre les phénotypes cliniques, biochimiques, morphologiques et le génotype seront présentées et discutées.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P062 - MOSAÏCISMES SOMATIQUES DU GENE ALAS2 RESPONSABLES DE PROTOPORPHYRIE ERYTHROPOÏETIQUE DOMINANTE LIEE A L'X

S DUCAMP (1), C Livideanu (2), J Lamoril (3), T Lefebvre (4), L Gouya (5), MC Marguery (2), C Beaumont (5), JC Deybach (4), H Puy (4)

1. U773, Centre de Recherche Biomédicale Bichat Beaujon, PARIS, France
2. Département de dermatologie, Université Paul Sabatier, Toulouse, France
3. (4) AP-HP, Laboratoire de Biochimie Hormonale et Génétique, Hôpital Bichat, PARIS, France
4. Centre Français des Porphyries, Hôpital Louis Mourier, Colombes, France
5. U773, Centre de Recherche Biomédicale Bichat Beaujon, Paris, France

La protoporphyrie érythropoïétique dominante liée à l'X (XLDPP) est une maladie métabolique héréditaire rare récemment caractérisée (2008). Elle est caractérisée par l'accumulation anormale de protoporphyrine intraérythrocytaire libre et complexée au zinc résultant en une photodermatose algique. Ce variant de protoporphyrie résulte de la délétion ou du remplacement du domaine C-terminal de l'isoforme érythroïde spécifique de l'acide delta-aminolévulinique synthase (ALAS2), première enzyme de la voie de biosynthèse de l'hème.

Deux nouvelles familles ont été recrutées par le Centre Français des Porphyries portant à 6 le nombre de familles XLDPP françaises. La première famille nucléaire comprend une mère et sa fille atteintes. Dans la seconde famille, le cas index est un homme âgé de 80 ans présentant une révélation tardive de la maladie. Des analyses de phénotypage biochimique et de génétique ont permis de confirmer que ces trois patients étaient atteints d'XLDPP.

Dans la première famille, l'analyse par séquençage direct a identifié chez la fille une mutation du gène ALAS2 à l'état hétérozygote déjà décrite c.1706-1709 delAGTG (p.E569GfsX24). De manière étonnante, la mutation n'était pas détectée chez la mère. Une lecture fine du bruit de fond de l'électrophorégramme associée à une analyse de fragments marqués par électrophorèse sur ABI 3130 a permis de mettre en évidence chez la mère un mosaïcisme. Seul 13 à 14% de son ADN génomique issu du sang périphérique ou de prélèvement buccal est muté. La mère présente donc un mosaïcisme somatique et germinal.

Chez le patient mâle à révélation tardive, le séquençage direct a révélé un profil hétérozygote c.1642C>T (WT/p.Q548X) pour le gène ALAS2 (Chr. X). Dans le prélèvement issu du sang périphérique, l'allèle muté est majoritaire contrairement au prélèvement buccal. Ses filles n'ont pas hérité du chromosome paternel muté. Le patient présente un mosaïcisme somatique. Il est probable qu'un évènement récent ait amplifié dans la lignée rouge un clone portant la mutation.

Ce travail démontre la nécessité d'une analyse génétique précise au sein des familles XLDPP sans anomalie moléculaire du gène ALAS2 évidente après séquençage direct. De plus, il apparaît qu'une anomalie de l'ALAS2 doit être envisagée dans les cas de protoporphyries érythropoïétiques tardives. Enfin la présence d'un mosaïcisme somatique apparaît comme un mécanisme relativement fréquent dans l'XLDPP.

To-Figueras J, Ducamp S, Clayton J, Badenas C, Delaby C, Ged C, Lyoumi S, Gouya L, de Verneuil H, Beaumont C and others. 2011. ALAS2 acts as a modifier gene in patients with congenital erythropoietic porphyria. Blood 118(6):1443-51.

Whatley SD, Ducamp S, Gouya L, Grandchamp B, Beaumont C, Badminton MN, Elder GH, Holme SA, Anstey AV, Parker M and others. 2008. C-terminal deletions in the ALAS2 gene lead to gain of function and cause X-linked dominant protoporphyria without anemia or iron overload. Am J Hum Genet 83(3):408-14.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P063 - SDCCAG8, UN NOUVEAU GENE IMPLIQUE DANS LE SYNDROME DE BARDET-BIEDL ENRICHISSANT LE SPECTRE PHENOTYPIQUE DES CILIOPATHIES

C Stoetzel (1), E Schaefer (2), A Zaloszyc (2), J Lauer (2), M Durand (2), F Stutzmann (2), Y Perdomo-Trujillo (3), C Redin (4), V Bennouna Greene (2), A Toutain (5), L Perrin (6), M Gérard (6), S Caillard (7), X Bei (8), RA Lewis (9), D Christmann (10), J Letsch (3), M Kribs (11), C Mutter (12), J Muller (13), M Fischbach (14), V Marion (2), N Katsanis (8), H Dollfus (2)

1. Laboratoire de Physiopathologie des Syndromes Rares Héréditaires, Equipe Avenir-Inserm, Faculté de Médecine de Strasbourg, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Laboratoire de Physiopathologie des Syndromes rares Héréditaires, Equipe Avenir-Inserm, Faculté de Médecine de Strasbourg, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Centre de Référence pour les Affections Rares en Génétique Ophtalmologique (CARGO), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Laboratoire de Bioinformatique et Génomique Intégratives, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch-Graffenstaden, France
5. Service de Génétique, Hôpitaux Universitaires de Tours, Tours, France
6. Département de Génétique, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, CHU Robert Debré, Paris, France
7. Service de Néphrologie, Dialyse et Transplantation Rénale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
8. Center for Human Disease Modeling, Duke University Medical Center, Durham, N.C, USA
9. Department of Ophthalmology, Baylor College of Medicine, Houston, USA
10. Service de Radiologie 2, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
11. Service de Néphrologie et d'Hémodialyse, Centre Hospitalier Régional, Haguenau, France
12. Centre d'Investigation Clinique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
13. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France
14. Service de Pédiatrie 1, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France

Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS) (OMIM 209900) est une maladie autosomique récessive caractérisée cliniquement par l'association variable d'une rétinopathie pigmentaire, d'une obésité, d'une polydactylie, d'anomalies rénales, d'un hypogonadisme et de troubles des apprentissages. Ce syndrome est hétérogène sur le plan génétique.

Nous rapportons ici l'identification du gène SDCCAG8 comme étant le 16ème locus associé au syndrome de Bardet-Biedl. A ce jour, environ 80% des familles BBS sont caractérisées sur le plan moléculaire. L'identification de nouveaux gènes BBS pour les 20% des familles restantes est rendue difficile par la petite taille des échantillons et/ou l'absence de consanguinité.

Une étude par puce SNP (Affymetrix 6.0) a permis d'identifier, dans une grande famille consanguine d'origine tzigane, une petite zone d'homozygotie sur le chromosome 1 (240-242.38Mb) partagée par les individus atteints et contenant 5 gènes candidats (PLD5, CEP170, SDCCAG8, AKT3, ZNF238). Le séquençage de l'ADN génomique de ces différents gènes n'a pas révélé de mutation. Par contre, l'étude de l'ARN extrait de cellules de fibroblastes a identifié, une mutation intronique profonde (c.740+356C> T) à l'état homozygote prédite pour causer la perte d'un site ESE (exonic splice enhancer) et entraîner l'incorporation aberrante de séquences introniques. Des études en RT-PCR quantitative et en Western blot ont permis de valider la pathogénicité de la mutation.

Deux autres familles BBS consanguines du laboratoire présentaient elles aussi une zone d'homozygotie de petite taille comprenant SDCCAG8. Le séquençage du gène a détecté deux nouvelles mutations à l'état homozygote: p.K227X/K227X et p.R374X/R374X.

L'analyse parallèle d'une autre cohorte américaine de patient BBS a identifié deux autres familles mutées dans SDCCAG8 à l'état hétérozygote composite: p.Y232X/splice exon 7 et p.T482SfsX11/D543AfsX23.

Parallèlement à notre étude des mutations dans le gène SDCCAG8 ont été identifiés dans une cohorte de patients atteints de syndrome de Senior-Löken (OMIM 266900).

De façon intéressante tous les patients BBS mutés dans le gène SDCCAG8 présentent une rétinopathie pigmentaire, une atteinte rénale précoce et sévère et une absence de polydactylie

comme dans le syndrome de Senior-Löken ; mais tous présentent également des critères majeurs du BBS : obésité, troubles des apprentissages et hypogonadisme.
Des investigations cliniques dans la cohorte française ont mis en évidence une atteinte respiratoire et ORL à type d'infections à répétition chez tous les patients mutés.
Ce phénotype clinique spécifique pourrait permettre d'orienter la stratégie de diagnostic moléculaire pour proposer une prise en charge optimale et un conseil génétique éclairé.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P064 - UNE NOUVELLE MUTATION DANS LE GENE TFAP2A RESPONSABLE DU SYNDROME BRANCHIO-OCULO-FACIAL (BOFS)

C Stoetzel (1), A Konstantinos (2), V Pelletier (2), E Schaefer (3), S Hellé (4), K Angioï-Duprez (5), J Vigneron (6), B Leheup (7), V Marion (3), H Dollfus (3)

1. Laboratoire de Physiopathologie des Syndromes Rares Héréditaires, Equipe Avenir-Inserm, Faculté de Médecine de Strasbourg, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Centre de Référence pour les Affections Rares en Génétique Ophtalmologique (CARGO), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Laboratoire de Physiopathologie des Syndromes rares Héréditaires, Equipe Avenir-Inserm, Faculté de Médecine de Strasbourg, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Laboratoire de Physiopathologie des Syndromes Rares Héréditaires, équipe avenir INSERM, Faculté de Médecine, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Service d'Ophtalmologie, Hôpital Brabois adultes, CHU Nancy, Nancy, France
6. Consultation de Génétique, Maternité Régionale 'A. Pinard', CHU Nancy, Nancy, France
7. Service de Médecine Infantile III et Génétique Clinique, CHU Nancy, Nancy, France

Le syndrome branchio-oculo-facial (BOFS) est un syndrome autosomique dominant qui se définit par l'association de fentes branchiales, d'anomalies oculaires (colobome de la rétine, microphtalmie, atrésie des canaux lacrymaux) et de malformations crânio-faciales responsables d'une dysmorphie faciale. Des manifestations ectodermiques ainsi que des anomalies rénales (kystes, agénésie, hydronéphrose) peuvent être présentes. Un retard de croissance et un retard intellectuel sont également rapportés. Les autres signes cliniques sont : la fente labiale associée ou non à une fente palatine, les oreilles mal ourlées, la surdité de transmission ou de perception, des fistules pré-auriculaires ou labiales, un palais ogival, des kystes sous-cutanés du cuir chevelu.

Le syndrome BOF est dû à des mutations du gène TFAP2A (transcription factor AP-2 alpha; 6p24). Le diagnostic est clinique et peut être confirmé par une analyse moléculaire. Le syndrome BOF se caractérise par une extrême variabilité phénotypique sans corrélation entre le génotype et le phénotype.

Nous rapportons ici l'observation d'une famille atteinte d'un syndrome BOF avec une variabilité phénotypique intrafamiliale. Le fils présente une forme typique du syndrome avec atteinte oculaire (microphtalmie), dysmorphie faciale (petites fentes palpébrales orientées en haut et en dehors, oreilles malformées bas implantées en rotation postérieure, lèvre supérieure anormale avec philtrum très court et protrus, et palais ogival), anomalies dentaires (retard d'éruption et malposition dentaire), difficultés scolaires et petite taille. A l'inverse, la mère et la fille sont atteintes d'une forme modérée principalement oculaire (microphtalmie, colobome, atrésie des canaux lacrymaux) avec un aspect de « pseudo-fente labiale » de la lèvre supérieure. L'analyse moléculaire a mis en évidence une mutation « décalage du cadre de lecture» à l'état hétérozygote dans le gène TFAP2A (c.596delA/N; p.K199fsX/N).

Cette observation confirme la variabilité phénotypique du syndrome BOF au sein d'une même famille et souligne l'importance de l'examen clinique à la recherche d'une forme paucisymptomatique. Les patients présentant un syndrome BOF avec un phénotype oculaire prédominant peuvent être sous-diagnostiqués ; l'examen de la lèvre supérieure peut alors être un élément discriminant. Devant une suspicion clinique de syndrome BOF, le gène TFAP2A doit être analysé pour confirmer le diagnostic et proposer un conseil génétique éclairé.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P065 - UN NOUVEAU TRANSCRIT ALTERNATIF DU GENE CODANT LE RECEPTEUR AU TNFA, TNFR1-D2 : BASE MOLECULAIRE DE LA REGULATION DE SON EXPRESSION ET ROLE CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DU SYNDROME PERIODIQUE ASSOCIE AU RECEPTEUR 1 DU TNF (TRAPS)

C Rittore (1), E Sanchez (2), S Soler (1), M Barat (3), M Albers (4), L Obici (5), MF McDermott (6), I Touitou (1), S Grandemange (1)

1. Unité des maladies auto-inflammatoires, CHRU/INSERM, Montpellier, France
2. 1. Génétique des maladies Auto-inflammatoires et des ostéo-arthropathies chroniques, INSERM, Montpellier, France
3. Unité des maladies auto-inflammatoires, CHRU, Montpellier, France
4. University Medish Centrum, UMC, Utrecht, Pays-bas
5. Biotechnology Research Laboratories, IRCCS Fundazion Policlinico San Matteo, Pavia, Italie
6. Musculoskeletal Biomedical Research Unit, LIMM, Leeds, Royaume-Uni

La liaison de la cytokine TNFα à un de ces récepteurs, TNFR1, induit diverses réponses incluant la mort cellulaire, la différentiation ou l'inflammation. Des mutations hétérozygotes du gène TNFRSF1A codant le récepteur TNFR1 sont responsables du syndrome auto-inflammatoire TRAPS (TNFR-associated periodic syndrome). Cette maladie de transmission autosomique dominante, survient dans la petite enfance et se caractérise cliniquement par des accès inflammatoires récurrents de cause inconnue. La fièvre s'accompagne d'un cortège de symptômes associant signes abdominaux, articulaires et cutanés. Même si la majorité des mutations se trouve dans le domaine extracellulaire de TNFR1 nécessaire à sa trimérisation à la membrane plasmique et à sa liaison à la cytokine TNFα, la physiopathologie du syndrome TRAPS semble différente en fonction de la mutation et reste à ce jour encore à l'étude.

Afin d'étudier l'expression de ce gène chez des patients atteints de TRAPS, nous avons mis au point une RT-PCR multiplexe qui nous a permis d'identifier un nouveau transcrit alternatif, TNFR1-d2, caractérisé par un épissage de l'exon 2 du gène. Nous montrons sur des ARN totaux provenant de différents cellules et tissus humains que ce transcrit présente une expression tissus spécifique alors que celle du transcrit TNFR1 est ubiquitaire. Des analyses quantitatives de TNFR1-d2 suggèrent qu'il est surexprimé dans des leucocytes provenant de patients atteints de TRAPS et que le niveau de son expression varie en fonction du génotype porté au niveau d'un polymorphisme dans l'intron 4 du gène, c.473-33 C>T (rs1800692). D'une manière intéressante, le génotype de ce polymorphisme sur une cohorte de 112 patients TRAPS, révèle qu'un seul patient est homozygote pour l'allèle T alors qu'il y a 14 individus avec ce génotype dans un groupe de 72 contrôles (p

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P066 - SCREENING D'ADAMTS10, FBN1 ET ADAMTS17 DANS UNE COHORTE DE 17 PATIENTS PRESENTANT LE SYNDROME DE WEILL-MARCHESANI

C Mahaut (1), L Zylberberg (2), C Baumann (3), N Blank (4), E Bongers (5), A David (6), D De Brasi (7), I Ellis (8), R Fischetto (9), D Judge (10), SK Law (11), S Mansour (12), M Mathieu-Dramard (13), A Medeira (14), W Newman (15), T Rosenberg (16), J Tolmie (17), A Munnich (1), V Cormier-Daire (1), C Le Goff (1)

1. Département de Génétique, U781, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
2. Centre National de la Récherche Scientifique, UMR71 93, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
3. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. Internal medicine, University of Heidelberg, Heidelberg, Allemagne
5. Department of Human Genetics, Radboud University, Nijmegen, Pays-bas
6. Département de Génétique, CHU de Nantes, Nantes, France
7. Dipartimento di Pediatria, Università "Federico II", Naples, Italie
8. Department of Clinical Genetics, Alder Hey Children's Hospital, Liverpool, Royaume-Uni
9. U.O. Malattie Metaboliche e Genetica Medica, A.O.U. Policlinico Consorziale, Bari, Italie
10. Division of Cardiology, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, USA
11. Jules Stein Eye Institute, University of California, Los Angeles, USA
12. SW Thames Regional Genetics Service, St George's University of London, London, Royaume-Uni
13. Service de Génétique Médicale, CHRU Amiens, Amiens, France
14. Department of Medical Genetics, Hospital Santa Maria, Lisboa, Portugal
15. Unit of Medical Genetics, St Mary's Hospital, Manchester, Royaume-Uni
16. National Eye Clinic, Kennedy Center, Glostrup, Danemark
17. Department of Medical Genetics, Ferguson Smith Centre, Yorkhill Hospital, Glasgow, Royaume-Uni

Le Syndrome de Weill-Marchesani est une maladie rare, caractérisée par une insuffisance staturale, des extrémités courtes et trapues, une limitation articulaire, et une microsphérophakie qui peut être associée à une myopie sévère, un glaucome ou une cataracte. Malgré une homogénéité clinique, deux modes de transmission ont été décrits : autosomal récessif et autosomal dominant. Nous avons tout d'abord montré que le gène FBN1 (Fibrilline 1) est responsable de la forme dominante du SWM en identifiant une délétion de 24 nucléotides dans le domaine LTBP1 (exon 41, 5074_5097del) de FBN1. Parallèlement, nous avons identifié trois mutations distinctes dans le gène ADAMTS10 (A Disintegrin-like And Metalloproteinase domain (type reprolysine) with ThromboSpondin type 1 repeats) dans la forme récessive du SWM.

A la suite de notre première étude, nous avons collecté les échantillons de 17 nouvelles familles SWM. Nous avons identifié des mutations dans ADAMTS10 chez 2/17 patients dont 3 nouvelles (2 mutations faux-sens: c.1462C>A; p.Arg488Ser et c.2986C>T; p.Arg996Ser et 1 mutation non-sens: c.2293dup; p.Gln765ProfsX31).

Nous avons identifié 6 mutations faux sens dans FBN1 chez 6/17 patients, localisées dans les domaines TGF-beta like5 et EGF-like. Le séquençage de FBN1 est en cours pour 2 cas. L'identification récente de mutations dans ADAMTS17 dans trois cas de SWM-like nous a conduit à séquencer ADAMTS17 dans 7 cas sans mutation dans ADAMTS10 et FBN1. Nous avons identifié des mutations dans un cas, présentes à l' état hétérozygote composite (1 mutation faux-sens: c.1239G>C; p.Met413Ile et 1 mutation non-sens: c.1630G>T; p.Gly544X). Enfin, nous avons analysé le réseau microfibrillaire des fibroblastes de patients SWM par microscopie électronique et avons montré un changement dans la structure microfibrillaire.

L'absence de mutation dans 6 cas est en faveur de l'implication d'autres gènes. Nos résultats suggèrent aussi que les protéines ADAMTS10, ADAMTS17 et FBN1 jouent un rôle clé dans la formation de la lentille du cristallin et des tissus conjonctifs.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P067 - ETUDE CLINIQUE ET MOLECULAIRE DE PATIENTS ATTEINTS DE CYLINDROMATOSE

F AUBIN (1), MF AVRIL (2), N BASSET-SEGUIN (3), A BOURILLON (4), F CAUX (5), B GRANDCHAMP (6), C KANNENGIESSER (7), L MARTIN (8), C MORENO (9), A RIFFAULT (7), N SOUFIR (10), A TSALAMLAL (4)

1. DERMATOLOGIE, Centre Hospitalier, Besançon, France
2. DERMATOLOGIE, Hôpital Cochin, PARIS, France
3. DERMATOLOGIE, Hôpital St Louis, Centre de recherche sur la peau insermU976, PARIS, France
4. BIOCHIMIE-GENETIQUE, CHU Bichat Claude Bernard, PARIS, France
5. DERMATOLOGIE, Hôpital Avicienne, BOBIGNY, France
6. GENETIQUE, CHU Bichat Claude-Bernard, PARIS, France
7. BIOCHIMIE-GENETIQUE, CHU Bichat Claude-Bernard, PARIS, France
8. DERMATOLOGIE, CHU Angers, ANGERS, France
9. DERMATOLOGIE, Hôpital Henri Mondor, CRETEIL, France
10. GENETIQUE, CHU Bichat Claude-Bernard, Centre de recherche sur la peau insermU976, PARIS, France

Introduction:

Le syndrome de Brooke-Spiegler est une génodermatose rare, de transmission autosomique dominante,caractérisée par l'apparition de tumeurs sudorales, et causée par des mutations de CYLD,responsable d'une activation de la voie du TNFα.

Matériel et Méthodes:

37 prélèvements sanguins ont été reçus au laboratoire de Génétique de l'hôpital Bichat. Un consentement et une feuille de demande étaient joints à chaque prélèvement comprenant des items cliniques (âge de début, type(s) de tumeur(s) (cylindromes et/ou trichoépithéliomes, et /ou spiradénomes), localisation, caractère familial, survenue de carcinomes basocellulaires dans la famille. L'ADN a été extrait, et un séquençage des exons codants du gène CYLD a été réalisé. En l'absence de mutations, une recherche de délétion était faite par Q-PCR puis par CGH.

Résultats:

Parmi les 37 malades, 12 présentaient une forme familiale (0.32). L'âge de survenue moyen était de 27 ans(13-59). Le sexe ratio (F/H) était de 1.2. Les patients étaient porteurs de cylindromes dans 40% des cas, de trichoépithéliomes dans 32 % des cas,de spiradénomes dans 13% des cas. La seule présence de trichoéptheliomes était retrouvée dans 8 % des cas. Des carcinomes basocellulaires étaient notés chez 4 patients (10%). La localisation des lésions était principalement le visage (80%), le cuir chevelu (38%), le tronc (15%). Vingt-neuf malades étaient porteurs d'une mutation de CYLD (85%). On retrouvait des mutations décalant le cadre de lecture (45%), d'épissage(17%), non-sens (17%), des délétions de plusieurs exons (14%) et une délétion en phase (7%).

Discussion:

Nous rapportons la plus grande série actuellement connue de cylindromatose. Notre étude confirme l'existence des 3 formes cliniques différentes(cylindromes purs, Brooke-Spiegler associant les 3 types de tumeurs, et trichoépithéliomatose isolée), ainsi que la fréquence importante des carcinomes basocellulaires dans cette pathologie.
Nous rapportons l'existence de nouvelles mutations de CYLD et l'existence fréquente de réarrangements de grande taille, ce qui doit donc conduire à une analyse exhaustive du gène

lorsqu'un diagnostic moléculaire est conduit. La très grande majorité des mutations entrainent la production d'une protéine tronquée.

Conclusion:

Le fort taux de détection de mutations du gène CYLD permet, dans cette pathologie, d'assurer plus facilement le diagnostic et de mettre en place un conseil génétique adapté.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P068 - ANKYLOSE PROGRESSIVE DES ARTICULATIONS DANS L'ENFANCE : PENSER AUX ERREURS INNEES DU METABOLISME

E BRISCHOUX-BOUCHER (1), L VAN MALDERGEM (1)

1. Centre de Génétique Humaine, CHU Saint Jacques, Université de Franche-Comté, Besançon, France

Nous rapportons deux patients évalués pour douleurs osseuses et ankylose progressive des articulations dans l'enfance. (1) Cas index de sexe masculin, issu de parents non consanguins, d'origine caucasienne et algérienne, né à 37 semaines d'aménorrhée avec des paramètres de naissance normaux. Les antécédents familiaux sont négatifs. Le développement psychomoteur est normal. Il présente dès l'âge de 2 ans une ankylose et une hypertrophie progressive des articulations (épaules, coudes, doigts, rachis et genoux). Les radiographies indiquent une déminéralisation du squelette et des condyles fémoraux irréguliers. (2) Cas index de sexe féminin évaluée à 17 ans pour des contractures des mains et des douleurs osseuses des hanches, des genoux et des chevilles. Les radiographies montrent une dysplasie des hanches et un aspect « grignoté » de l'interligne articulaire. Les diagnostics initialement évoqués chez ces deux patients sont une affection rhumatologique telle que l'arthrite chronique juvénile, une ostéochondrodysplasie (ostéoarthrose précoce, chondrodysplasie pseudo-rhumatoïde progressive, dysplasie polyépiphysaire). Une élévation de l'activité des hydrolases acides sériques a permis d'orienter le diagnostic vers une mucolipidose de type III. Les mucolipidoses sont des maladies de l'adressage des enzymes lysosomiales, caractérisées par la présence d'inclusions cellulaires visibles en microscopie électronique et d'une élévation des enzymes lysosomiales sériques . La mucolipidose de type II, forme classique avec un phénotype sévère, se caractérise par un retard de croissance, une dysmorphie faciale caractéristique avec des traits épaissis, des déformations et douleur osseuses, des opacités cornéennes, un épaississement des valves cardiaques, une insuffisance respiratoire restrictive, une organomégalie et un retard psychomoteur. La mucolipidose de type III, divisée en 2 sous types alpha/beta (polydystrophie pseudo-Hurlerienne) et gamma, est une affection lentement évolutive débutant vers l'âge de 3 ans. Elle associe une atteinte pluri-articulaire, un ralentissement de la croissance staturale et un épaississement progressif des traits du visage(inconstant). Elle peut parfois déterminer une déficience cognitive légère et entraîner des complications cardiorespiratoires. Le diagnostic est confirmé en biologie moléculaire dans 95% des cas par l'identification d'une mutation de GNPTAB (alpha/beta) ou GNPTG (gamma). La forme tardive de déficience en alpha-L-iduronidase, ou maladie de Hurler-Scheie peut donner un tableau clinique comparable.

Mots clés : mucolipidose, enzymes lysosomiales, GNPTAB, GNPTG

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P069 - ETUDE DE GENE AR CHEZ TROIS PATIENTES TUNISIENNES ATTEINTES DE CAIS

B Ben Rhouma (1), N Belguith (2), M Mouna (3), K Chabène (4), M Kamoun (5), F Abdelhedi (5), Med Guermasi (4), Med Abid (5), H Kamoun (6), F Fakhfakh (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Génétique Médicale, Hedi Chaker, Sfax, Tunisie
3. Endocrinology, Hedi Chaker, Sfax, Tunisie
4. Gynécologie, hôpital Hedi Chaker, Sfax, Tunisie
5. Endocrinologie, hôpital Hedi Chaker, Sfax, Tunisie
6. Génétique Médicale, hôpital Hedi Chaker, Sfax, Tunisie

Nous rapportons l'observation de trois filles appartenant à la même famille d'âge respectivement 30, 23 et 18 ans. Pour les trois sœurs, le motif de consultation était une aménorrhée primaire, le caryotype standard en bandes G a montré une formule masculine 46, XY alors que le bilan hormonal a révélé des taux normaux de FSH et des taux élevés de testostérone et LH faisant suspecter une résistance aux androgènes.

L'étude génétique réalisée chez les trois sœurs a montré la présence de la mutation p.R753X au niveau de l'exon 5 du gène RA. Cette mutation entraine une protéine tronquée dépourvue de 168 acides aminés dans sa région C_terminale. La mutation p.R753X est responsable de l'inactivation du récepteur.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P070 - ABCB4 DELETIONS IN FAMILIAL LOW PHOSPHOLIPID-ASSOCIATED, AND ORAL CONTRACEPTIVES-INDUCED CHOLESTASIS

E Pasmant (1), P Goussard (2), I Laurendeau (3), O Farges (4), P Ponsot (5), D Vidaud (1), M Vidaud (1), JM Chen (6), B Parfait (1)

1. UMR745 INSERM et Service de Biochimie et de Génétique Moléculaire, Université Paris Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques et Hôpital Beaujon, AP-HP, Paris, France
2. Service de Biochimie et de Génétique Moléculaire, Hôpital Beaujon, Clichy, France
3. UMR745 INSERM, Université Paris Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris, France
4. Service de Chirurgie digestive, Hôpital Beaujon, Clichy, France
5. Service de Gastroentérologie, Hôpital Beaujon, Clichy, France
6. U613, INSERM et EFS-Bretagne, Brest, France

Subject: The wide clinical spectrum of the ABCB4 gene (ATP-binding cassette subfamily B member 4) deficiency syndromes in humans includes low phospholipid-associated cholestasis (LPAC), intrahepatic cholestasis of pregnancy (ICP), oral contraceptives-induced cholestasis (CIC) and progressive familial intrahepatic cholestasis type 3 (PFIC3). No ABCB4 mutations are found in a significant proportion of patients with these syndromes. Materials and Methods: In the present study, 102 unrelated adult patients with LPAC (43 patients) or CIC/ICP (59 patients) were screened using DNA sequencing. Heterozygous ABCB4 point or short insertion/deletion mutations were found in 37% (16/43) of the LPAC patients and in 27% (16/59) of the ICP/CIC patients. High-resolution gene dosage methodologies were used in the 70 negative patients. Results: Here, we describe for the first time ABCB4 partial or complete heterozygous deletions in 7% (3/43) of LPAC patients, and in 2% (1/59) of ICP/CIC patients. Discussion/Conclusion: Our observations urge to systematically test patients with LPAC, ICP/CIC, and also children with PFIC3 for the presence of ABCB4 deletions using molecular tools allowing detection of gross rearrangements. In clinical practice, a comprehensive ABCB4 alteration screening algorithm will permit the use of ABCB4 genotyping to confirm the diagnosis of LPAC or ICP/CIC, and allow familial testing. An early diagnosis of these biliary diseases may be beneficial because of the preventive effect of ursodeoxycholic acid on biliary complications. Further comparative studies of patients with well-characterized genotypes (including deletions) and phenotypes will help determine whether ABCB4 mutation types influence clinical outcomes.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P071 - LA MUTATION RECURRENTE C.1878DELA CHEZ LES PATIENTS MAROCAINS ATTEINTS DE SYNDROME DE DYGGVE-MELCHIOR-CLAUSEN.

M Mansouri (1), S C.Elalaoui (1), FZ Laarabi (1), A Sefiani (2)

1. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc

Le syndrome de Dyggve-Melchior-Clausen (SDMC) (OMIM 223800) est une osteochondrodysplasie rare, appartenant au groupe des dysplasies spondylo-épimétaphysaires, avec moins de 80 cas décrit dans la littérature .Cliniquement, le SDMC se caractérise par un nanisme progressif, une microcéphalie, un visage de surcharge, un thorax en bouclier,des anomalies des membres, et un retard mental de sévérité variable.Le diagnostic est posé radiologiquement à la recherche de la platyspondylie avec une image typique des vertèbres qui sont en double-bosse, la dysplasie épiphyso-métaphysaire et l'aspect festonné des ailes iliaques.Le SDMC est de transmission autosomique récessive, et il est dû à des mutations du gène DYM situé en 18q21.1. Ce gène code pour une protéine nommée Dymécline présente au niveau de plusieurs tissus mais principalement le cartilage, le cerveau et l'os, il s'agit d'une protéine membranaire interagissant avec l'appareil de Golgi. Plusieurs mutations ont été rapportées dans ce gène dont une mutation marocaine récurrente la c.1878delA au niveau de l'exon 17 du gène DYM, qui a été rapportée chez 7 familles marocaines.

Nous rapportons dans ce travail, l'observation de trois familles marocaines dont deux sont consanguines, ayantle SDMC. Deux familles avec deux enfants atteints et la troisième famille avec un seul enfant atteint. L'étude moléculaire a confirmé le diagnostic de SDMC en objectivant la présence de la mutation c.1878delA chez les patients.

Le spectre mutationnel du gène DYM chez les patients marocains est rapporté sur la base de donnes des mutations marocaines MoHuMuDa (Moroccan Human Mutation Database), (http://www.sante.gov.ma/Departements/INH/MoHuMuDa/index.hmt), la mutation c.1878delA chez les patients marocains atteints du SDMC représente 60.7% des allèles mutés chez les patients marocains(17/28 allèles).A travers ce résultat nous proposons la recherche de cette mutation en première intention chez les patients marocains avec SDMC puisque il représente plus de la moitié des mutations.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P072 - FORME AUTOSOMIQUE RECESSIVE DE LA DYSPLASIE DENTINAIRE TYPE I CHEZ UNE FAMILLE MAROCAINE CONSANGUINE

I Cherkaoui Jaouad (1), M ElAlloussi (2), FZ Laarabi (3), S Chafai Elalaoui (3), A Bouhouch (4), A Sefiani (3)

1. Département de génétique médicale, Institut national d'hygiène, rabat, Maroc
2. Service d'odontologie pédiatrique, Faculté de médecine dentaire, Rabat, Maroc
3. Département de génétique médicale, institut national d'hygiène, rabat, Maroc
4. Centre de génomique humaine, faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc

La dysplasie dentinaire est une anomalie de la structure dentinaire qui affecte les dents temporaires et définitives. C'est une maladie génétique rare de transmission autosomique dominante, sa prévalence est de 1/100 000. Elle est classée en 2 types: la dysplasie dentinaire type I, qui affecte la dentine radiculaire et dont l'anomalie moléculaire est inconnue; la dysplasie dentinaire type II, qui affecte la dentine coronale, de transmission autosomique dominante et dont le gène causal est le gène DSPP (Dentin sialophosphoprotein gene).

Nous rapportons le cas d'une famille marocaine consanguine avec 4 cas de dysplasie dentinaire type I, et des données généalogiques qui évoquent une transmission autosomique récessive.

L'utilisation de marqueurs polymorphes encadrant le gène DSPP, nous ont permis d'exclure ce gène, ce qui nous a permis de rejetter l'hypothèse que la dysplasie dentinaire type I soit allélique à la dysplasie dentinaire autosomique dominante.

Cette famille, représente, à notre connaissance, la 1ère description d'une dysplasie dentinaire type I, de transmission autosomique récessive, et dont l'anomalie moléculaire reste à identifier. Ceci ouvrira la voie vers l'identification d'un nouveau gène impliqué dans la dysplasie dentinaire.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P073 - ANALYSE ANGIOGRAPHIQUE ET GENETIQUE CHEZ 26 PATIENTS PRESENTANT DES MALFORMATIONS ARTERIOVEINEUSES CEREBRALES A L'AGE PEDIATRIQUE

A OZANNE (1), M EYRIES (2), JP PELAGE (3), T CHINET (4), JH BLONDEL (4), F COULET (5), J ROUME (4), L GOUYA (4), I BOURGAULT (4), S BLIVET (4), D CORBAZAN (4), C FAGNOU (4), G LESUR (4), MC WAILL (6), P LASJAUNIAS (7), G SALIOU (7), D DUCREUX (4), B RAFFESTIN (8), P LACOMBE (4), F SOUBRIER (6)

1. Neuroradiologie, CHU Kremlin-Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
2. Laboratoire d'oncogénétique et d'angiogénétique, Hôpital Pitié-Salpétrière, PARIS, France
3. Consultation pluridisciplinaire HHT, Hôpital Ambroise paré, Boulogne, France
4. Consultation pluridisciplinaire HHT, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France
5. Laboratoire d'oncogénétique et d'angiogénétique, Hôpital Pitié Salpétrière, Paris, France
6. Laboratoire d'oncogénétique et d'angiogénétique, Hôpital Pitié-Salpétrière, Paris, France
7. Neuroradiologie, CHU Kremlin-Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
8. Consultation Pluridisciplinaire HHT, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France

La maladie de Rendu-Osler (MRO) ou télangiectasie hémorragique héréditaire (HHT) est une maladie vasculaire héréditaire dont le diagnostique clinique repose sur les critères de Curaçao : épistaxis récurrentes, télangiectasies cutanées ou buccales, contexte héréditaire familial, malformations artério-veineuses viscérales. Chez l'enfant l'ensemble de ces critères peut ne pas être présent mais des shunts vasculaires du système nerveux central tels que des fistules artérioveineuses à haut débit (simple ou multiple) peuvent être révélateurs de l'existence d'une MRO. Le dépistage génétique est alors essentiel puisqu'un diagnostic précoce des malformations artérioveineuses (MAV) cérébrales et des fistules artérioveineuses pulmonaires permet de prévenir de graves complications.

La MRO est associée majoritairement à des mutations sur les gènes de l'endogline (ENG) ou de l'activin A receptor type II-like kinase-1 (ACVRL1), responsables de la forme HHT1 et HHT2 respectivement. Récemment, un autre type de maladie vasculaire héréditaire combinant malformations capillaires et malformations artérioveineuses a été décrit et associé à des mutations du gène RASA1.

Dans cette étude, 26 patients présentant des fistules artérioveineuses cérébrales à haut débit, détectées à un âge pédiatrique ont été sélectionnés. Les patients présentant un nidus simple ou une micro-malformation artérioveineuse ont été exclus. Les angiogrammes de ces patients ont été analysés afin de rechercher en particulier l'existence de shunts artérioveineux multiples.

La recherche de mutations sur les gènes ENG, ACVRL1 et RASA1 a été faite par PCR/séquencage de l'ensemble de la région codante et des jonctions introniques de ces 3 gènes. La recherche de grands réarrangements dans les gènes ENG et ACVRL1 a été réalisée par MLPA.Les résultats de cette étude montrent qu'un taux important de mutation (50%) a été détecté chez les enfants présentant des MAV cérébrales. La prévalence des mutations RASA1 (30%) est plus grande que celle des mutations ENG (15.4%) ou ACVRL1 (3.8%) révélant l'importance de ce gène dans ce type de MAV. Les mutations ENG ou ACVRL1 semblent associées à une apparition plus tardive des symptomes cliniques comparé aux mutations RASA1.

Cette étude souligne l'importance du diagnostique génétique précoce chez les enfants présentants des MAV cérébrales et en particulier la recherche de mutations RASA1 qui semblent prédominantes dans ce type d'indication clinique.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P074 - IDENTIFICATION D'UNE LARGE DELETION DU GENE KAL1 CHEZ DEUX FRERES PRESENTANT UNE SURDITE NEUROSENSORIELLE

S Marlin (1), S Chantot (2), A David (3), S Gherbi (4), MF Portnoï (2), N Loundon (5), I Rouillon (6), L Jonard (7), C Bonnet (8), M Louha (9), R Couderc (10), NE Garabédian (5), F Denoyelle (5), JP Siffroi (2)

1. CMR Surdités Génétiques, INSERM, UMRS587, Service de Génétique et Embryologie Médicales, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Service de Génétique et Embryologie Médicales, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Service de Génétique, CMR Surdités Génétiques, CHU, Nantes, France
4. CMR Surdités Génétiques, Service de Génétique et Embryologie Médicale, Hôpital Trousseau, Paris, Finlande
5. Service d'ORL pédiatrique, CMR Surdités Génétiques, INSERM, UMRS587, Hôpital Trousseau, Paris, France
6. Service d'ORL pédiatrique, CMR Surdités Génétiques, Hôpital Trousseau, Paris, France
7. Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, CMR Surdités Génétiques, INSERM, UMRS587, Hôpital Trousseau, Paris, France
8. INSERM, UMRS587, Hôpital Trousseau, Paris, France
9. Service de Biochime et Biologie Moléculaire, CMR Surdités Génétiques, Hôpital Trousseau, Paris, France
10. Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital Trousseau, Paris, France

Matériel et Méthodes :

Deux frères, 9 ans et 14 ans, présentent une surdité neurosensorielle associée à des signes qui permettant d'évoquer le syndrome de Kallmann : agénésie rénale unilatérale, cryptorchidie, hyposmie et mouvements en miroir.

Résultats :

La surdité retrouvée chez les deux garçons est neurosensorielle et prélinguale mais de sévérité variable d'une forme unilatérale à profonde bilatérale. Le scanner des rochers est normal.
Une large délétion du gène KAL1 a été identifiée par CGH array dans les deux cas et à l'état de mosaïque chez leur mère asymptomatique.

Conclusion :

Le syndrome de Kallmann associe habituellement une anosmie et un hypogonadisme hypogonadotrophique. A ce jour, 5 gènes ont été identifiés dans le syndrome de Kallmann : KAL1, localisé sur le chromosome X et FGFR1, FGF8, PROKR2, PROK2
impliqués dans les formes de transmission autosomique. Le mode de transmission lié à l'X semble être le plus fréquent.
Plusieurs signes cliniques permettent d'évoquer ce diagnostic devant un jeune garçon présentant une surdité neuro-sensorielle: aplasie rénale, cryptorchidie, mouvements en miroir, mouvements oculaires anormaux, une hyposmie et un retard pubertaire.
L'absence de malformations des canaux semicirculaires permet de différentier un syndrome de Kallmann d'un syndrome CHARGE devant l'association surdité et agénésie des bulbes olfactifs.
La présence de la délétion en mosaïque chez la mère de ces 2 garçons modifie le conseil génétique donné devant un cas « sporadique » de syndrome de Kallmann avec anomalie du gène KAL1.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P075 - EURO-WABB: UNE BASE DE DONNEES EUROPEENNE DES MALADIES RARES POUR LES SYNDROMES DE WOLFRAM, ALSTRÖM, BARDET-BIEDL ET AUTRES FORMES DE DIABETES RARES

A Chaussenot (1), T Barrett (2), R Sinnott (3), S McCafferty (3), V Nunes (4), M López de Heredia (4), P Maffei (5), W Mlynarski (6), V Tillmann (7), L Tranebjaerg (8), A Farmer (2), S Aymé (9), N Jaffre (10), K Parkinson (11), V Paquis-Flucklinger (12)

1. Service de génétique médicale, Hôpital Archet 2, Nice, France
2. Unité de Diabétologie, Hôpital des Enfants, Birmingham, Royaume-Uni
3. National e-Science Centre, Université, Glasgow, Royaume-Uni
4. Laboratoire de génétique moléculaire, Institut de recherche biomédical de Bellvitge, Hôpital Duran i Reynals, Barcelone, Espagne
5. Département de Sciences médicales et chirurgicales, Université de Padoue, Padoue, Italie
6. Pédiatrie, Université Médicale, Lodz, Pologne
7. Pédiatrie, Université, Tartu, Estonie
8. Département d'Audiologie, Hôpital Bispebjerg, Copenhague, Danemark
9. Unité SC11, INSERM, Paris, France
10. Syndrome de Wolfram, Association, Grand-Champ, France
11. Syndrome d'Alström, Association, Devon, Royaume-Uni
12. LBPG, UMR CNRS 6267 / INSERM U998 / UNS, Nice, France

Introduction. Le projet Euro-WABB concerne les patients, suivis en europe, présentant certains syndromes rares dont le dénominateur commun est la survenue d'un diabète. Le syndrome de Wolfram (diabète sucré, atrophie optique, diabète insipide, surdité et autres complications) touche environ 1 individu sur 500 000. Ce syndrome, autosomique récessif, est principalement lié au gène WFS1. Plus rare (moins de 1/700 000), le syndrome d'Alström, caractérisé par une résistance à l'insuline, une obésité, une surdité et une dystrophie rétinienne, est dû à des mutations dans le gène ALMS1. Caractérisé par une grande hétérogénéité génétique, le syndrome de Bardet Biedl, également autosomique récessif, touche 1 personne sur 160 000, et associe notamment une rétinite pigmentaire, une obésité et une polydactylie. D'autres syndromes sont également concernés comme le Wolcott Rollinson ou les diabètes mitochondriaux.

Objectif. A partir de cette base de données européenne, les principaux objectifs du projet "EuroWabb" sont : 1- Collecter des données épidémiologiques sur les diabètes rares en Europe, 2- Accroître la connaissance de leurs histoires naturelles en disposant d'un nombre important d'observations cliniques, 3- Etablir des protocoles européens de diagnostic et de soins 3- Promouvoir les projets de recherche clinique (comme les corrélations génotype/phénotype), 4- Faciliter les essais thérapeutiques en disposant d'une liste de patients pouvant en bénéficier.

Méthode. Après obtention du consentement du patient, son identité sera anonymisée dans le registre. La base de données est constituée d'un noyau central contenant le minimum d'informations cliniques et moléculaires nécessaires pour établir le diagnostic, et d'une extension. Cette dernière contiendra des informations cliniques détaillées (âge de début, sévérité et évolutivité de chaque atteinte) permettant ainsi une meilleure connaissance de l'histoire naturelle de la maladie et la réalisation de corrélation phénotype/génotype. Elle sera régulièrement implémentée et actualisée par le médecin référant national pour EuroWabb. Les items moléculaires comprennent le nom du gène et le type de mutation (délétion, insertion, faux-sens, non-sens, frameshift...) en utilisant la nomenclature internationale et sera validée par un biologiste moléculaire national référent. Le registre sera abrité dans un serveur sécurisé du National e-Science Center (NeSC) à l'université de Glasgow.

Conclusion. Dans le cadre du projet européen Euro-WABB, le service de Génétique Médicale du CHU de Nice est responsable du développement de la base de données. Le nombre de cas à inclure est estimé à 200 pour chacun des 3 principaux syndromes (Wolfram, Alström et Bardet Biedl) et 50 pour l'ensemble des autres syndromes plus rares. Ce projet permettra d'améliorer le

diagnostic, le traitement et la recherche sur ces maladies génétiques rares comportant un diabète.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P076 - APPLICATION DE LA TECHNIQUE MLPA AUX GENES FBN1 ET TGBFR2 DANS LE SYNDROME DE MARFAN ET LES PATHOLOGIES ASSOCIEES : RESULTATS D'UNE GRANDE ETUDE FRANÇAISE.

N HANNA (1), L GOUYA (2), B GRANDCHAMP (2), C BAUMANN (3), C FRANCANNET (4), D LACOMBE (5), B LEHEUP (6), J LESPINASSE (7), L FAIVRE (8), G JONDEAU (2), C BOILEAU (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Ambroise Paré, AP-HP, Boulogne, France
2. CNR Marfan et apparentés, CHU Bichat, AP-HP, Paris, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU Robert Debré, AP-HP, Paris, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
6. Service de Génétique Médicale, CHU de Nancy, Vandoeuvre les Nancy, France
7. Service de Génétique Médicale, CH de Chambéry, Chambéry, France
8. Service de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants, CHU de Dijon, Dijon, France

Le syndrome de Marfan (MFS) est une maladie systémique du tissu conjonctif caractérisée par une combinaison de manifestations cardiovasculaires, musculo-squelettiques, ophtalmologiques, pulmonaires et cutanées. Dans la grande majorité des cas, le MFS est dû à des mutations du gène FBN1, codant pour la fibrilline-1. Dans environ 10% des cas, les analyses moléculaires classiques ne révèlent pas de mutation dans le gène FBN1. Des formes frontières sont reconnues et associées aux mutations des gènes TGFBR2 et TGFBR1, codant pour les récepteurs I et II du TGF-ß, illustrant une certaine hétérogénéité génétique. Toutefois, il reste des proposants chez lesquels aucune altération n'est observée après séquençage de ces gènes.

L'objectif de cette étude a été de déterminer la fréquence des délétions/duplications partielles ou complètes des gènes FBN1 et TGFBR2, non identifiées par les techniques de screening classiques basées sur la PCR, et d'essayer de déterminer d'éventuelles corrélations avec un phénotype particulier. Pour cela, nous avons utilisé la technique MLPA (MRC-Holland®, kits P065 et P066) chez 206 patients sans mutation ponctuelle dans les gènes FBN1, TGFBR1 et TGFBR2. Ces patients présentaient soit un MFS classique (diagnostic posé d'après les critères de Gand 1996), soit des signes cliniques insuffisants pour poser le diagnostic. Toutes les anomalies dépistées en MLPA ont été confirmées par PCR quantitative en temps réel.

Quatorze profils anormaux ont été mis en évidence. Au sein du gène FBN1, les 13 remaniements identifiés (12 délétions et une duplication) concernaient 10 patients présentant un MFS répondant aux critères diagnostics et 3 patients pour lesquels l'identification de l'anomalie moléculaire a permis de poser le diagnostic de MFS (Gand 1996). Une délétion au sein du gène TGFBR2 a été identifiée chez un patient présentant une atteinte aortique sévère et des signes squelettiques modérés. La fréquence des délétions ou duplications dans les gènes FBN1 et TGFBR2 chez les patients présentant une suspicion de MFS sans mutation ponctuelle dans les gènes FBN1, TGFBR1, et TGFBR2 peut donc être estimée à 14/206 (7%). Chez les 13 patients et 8 de leur apparentés présentant un remaniement du gène FBN1, l'atteinte cutanée ainsi que certains signes d'atteinte du système musculo-squelettique (scoliose, protrusion acétabulaire, palais ogival, dysmorphie faciale) sont significativement plus fréquents que chez les patients présentant une mutation ponctuelle (Faivre et al. 2007).

Au final, les délétions ou duplications des gènes FBN1 et TGFBR2 pourraient donc n'être responsable que de 0,5 à 1% des cas de MFS. Il reste donc une proportion non négligeable de patients pour lesquels les technologies mises en œuvre actuellement ne permettent pas le diagnostic moléculaire. La plus grande utilisation des techniques de screening appliquées à l'ARNm ainsi que l'amélioration de la couverture des kits de MLPA devraient permettre d'améliorer encore ces résultats.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P077 - DIABETE MITOCHONDRIAL: RECHERCHE DE LA MUTATION M.3243A>G ET LA MUTATION M.14709T>C CHEZ DEUX FAMILLES TUNISIENNES.

MITOCHONDRIAL DIABETES: SCREENING OF THE M.3243A>G AND THE M.14709T>C MUTATIONS IN TWO TUNISIAN FAMILIES.

F fakhfakh (1), N Mezghani (1), E Mkaouar-Rebai (1), M Mnif (2), N Charfi (2), M Abid (2)
1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie
2. Service d'endocrinologie, C.H.U. Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie

Le diabète mitochondrial (DM) est une atteinte hétérogène, caractérisée par la présence d'une hyperglycémie chronique. Les facteurs génétiques jouent un rôle important dans le développement de cette pathologie, et plusieurs études ont retrouvées des mutations dans des gènes nucléaires impliqués dans le fonctionnement de l'insuline.
En outre, le DM est maternellement transmis, en fait, les gènes mitochondriaux peuvent être des agents pathogènes responsables de l'apparition du diabète, puisque la phosphorylation oxydative mitochondriale joue un rôle important dans la secrètion d'insuline par les cellules bêta.
Nous nous sommes interressés lors de cette étude à la recherche de la mutation m.3243A>G et la mutation m.14709T>C, respectivement, au niveau du gène de l'ARNtLeu (UUR) et le gène de l'ARNtGlu chez deux familles tunisiennes atteintes de diabète mitochondrial en faisant des analyses par PCR-RFLP et par séquençage:
Les résultats ont montré la présence de la mutation m.14709T>C à l'état hétéroplasmique chez tous les patients de la famille 1 et la présence de la mutation m.14709T>C à l'état hétéroplasmique chez tous les patients de la famille 2, sauf un seul patient chez qui la mutation m.14709T>C est absente. De plus les résultats n'ont pas révélé la mutation m.3243A>G du gène de l'ARNtLeu(UUR) chez tous les patients des deux familles Tunisiennes.
Nous avons détecté également, la mutation hétèroplasmique m.14709 T>C au niveau du gène de l'ARNtGlu mitochondrial chez les deux familles tunisiennes atteintes de diabète mitochondrial. Dans cette étude nous avons montré que les taux de l'hétèroplasmie calculés sont en corrélation avec la sévérité et l'apparition du diabète mitochondrial chez une seule famille mais pas chez l'autre, ce qui suggère la présence de facteurs environnementaux ou de gènes modificateurs nucléaires puisque le séquençage de l'ADN mitochondrial total n'a pas révélé de gènes modificateurs mitochondriaux.
En conclusion, la présence de la mutation m.14709T>C au niveau du gène de l'ARNt Glu à l'état hétèroplasmique est en faveur de l'association de cette mutation avec le diabète mitochondrial chez les deux familles étudiées.
Mots clés:diabète mitochondrial; m.3243A>G; m.14709T>C; hétèroplasmie.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P078 - LA MALADIE DE HUNTINGTON EN TUNISIE : CONFIRMATION DIAGNOSTIQUE ET ANALYSE DE MODIFICATEURS GENIQUES. HUNTINGTON'S DISEASE IN TUNISIA: DIAGNOSTIC CONFIRMATION AND ANALYSIS OF GENETIC MODIFIERS

M Chourabi (1), D H'mida-Ben Brahim (1), S Mougou (1), S Trabelsi (1), S Sassi (1), M Gribaa (1), S Ben Amor (2), S Ben Ammou (2), T Lammouchi (2), A Saad (1)

1. Service de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de Reproduction, Hopital Farhat HACHED, Sousse, Tunisie

2. Service de Neurologie, Hopital Sahloul, Sousse, Tunisie

La maladie de Huntington (MH) est une affection neurodégénérative héréditaire de transmission autosomique dominante. La mutation responsable consiste en une expansion de plus de 35 trinucléotides CAG au niveau de l'exon 1 du gène IT15 situé sur le chromosome 4. Il nous parait important de noter que 2 patients ayant le même nombre de CAG pathologique, n'ont pas la même présentation clinique. En effet plusieurs sont les études qui ont montrés que le gène IT15 n'est pas à lui seul responsable de la présentation clinique de la MH. IT15 interagit avec plusieurs autres modificateurs géniques qui régissent l'âge de début, les différents symptômes et l'évolution de la maladie.

L'objectif de ce travail est de confirmer le diagnostic clinique souvent incertain de MH et d'établir une corrélation entre le génotype et le phénotype de la MH chez une dizaine de patients dans le but d'améliorer la compréhension des mécanismes physiopathologiques de la MH et de fournir un conseil génétique adapté.

Nous avons effectué une étude transversale chez 10 patients Tunisiens référés à notre laboratoire pour diagnostic génétique de MH sur une période de 16 mois allant de Septembre 2009 à décembre 2010. Nous nous intéressons en plus de la confirmation diagnostic de la MH à une dizaine de modificateurs géniques potentiels: IT15 (en dehors de l'expansion CAG); JPH3; DMPK; DRPLA; ATXN1; TBP; TCERG; GRIN2A; GRIN2B. La répétition CAG du gène IT15 ainsi que ces différents gènes modificateurs seront analysés chez les 10 patients. L'analyse génétique est conduite moyennant des techniques moléculaires adaptées à savoir la PCR triple amorces pour l'analyse des répétitions trinucléotidiques et un séquençage pour les polymorphismes de type SNP.

Nous avons réussit à confirmer le diagnostic chez les 10 patients. L'âge de début a varié entre 24 et 86 ans, avec un tableau clinique très hétérogène. Le nombre de répétitions CAG a varié entre 40 et 47 CAG. Une corrélation inverse entre l'âge de début et la taille de l'expansion de triplets a été établie dans 100% des cas. Aucune corrélation n'a par contre pu être établie entre l'âge de début et le nombre de répétition CAG de l'allèle normal. Nous avons par ailleurs tenté vainement d'établir une corrélation entre la présentation clinique, la progression de la symptomatologie et le nombre de CAG pathologiques.

Ce travail nous a permis de conclure quant à l'intérêt du test moléculaire dans la confirmation du diagnostic de MH essentiellement pour les tableaux cliniques atypiques et ceux ayant une histoire familiale négative. L'application du test génétique dans le diagnostic des désordres moteurs en pratique neurologique, et même en pratique psychiatrique permettra d'établir un vrai bilan statistique de la maladie en Tunisie. Nous avons par ailleurs été confrontés à la difficulté de fournir un conseil génétique précis et adapté à laquelle vient s'ajouter la présence d'un vide juridique en matière de bioéthique dans notre pays.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P079 - RECHERCHE DE REMANIEMENTS DE GRANDE TAILLE DU GENE POLG PAR QMPSF CHEZ DES PATIENTS PRESENTANT UNE INSTABILITE DE L'ADN MITOCHONDRIAL

S Bannwarth (1), A Chaussenot (1), K Fragaki (1), V Paquis-Flucklinger (1), c Rouzier (2), AS Lèbre (3), M Rio (4), C JARDEL (5), B Mousson de Camaret (6), R Deschamps (7)

1. Service de Génétique médicale, CHU L'Archet, NICE, France
2. Génétique médicale, CHU L'Archet, NICE, France
3. Département de Génétique médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, PARIS, France
4. Service de Génétique médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, PARIS, France
5. Service de Biochimie des maladies neurométaboliques, CHU Hôpital Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
6. Service Maladies héréditaires du métabolisme et dépistage néonatal, CHU Lyon-GH Est, LYON, France
7. Centre de référence des maladies rares musculaires et neuromusculaires, CHU Fort de France, Fort de France, France

Les mitochondriopathies sont des pathologies très hétérogènes secondaires à des mutations de l'ADN mitochondrial (ADNmt) ou de gènes nucléaires. POLG1, qui code pour la sous unité catalytique de la polymérase g, est le gène le plus fréquemment impliqué dans les pathologies mitochondriales liées à une instabilité de l'ADNmt à type de délétions multiples ou de déplétion. Cependant dans plus de 70% des cas, la recherche de mutations dans POLG1, ainsi que dans les autres gènes impliqués dans une instabilité de l'ADNmt, s'avère négative. Chez 10% des patients avec une pathologie de transmission a priori récessive, des variants POLG1 à l'état hétérozygote sont mis en évidence par séquençage sans qu'une 2ème mutation puisse être identifiée. De plus, aucune mutation POLG1 n'est retrouvée chez de nombreux patients présentant un phénotype évocateur de transmission dominante. Nous avons donc supposé que des remaniements de grande taille, non détectés par les techniques actuelles, pouvaient être en cause chez certains de ces patients. La méthode de séquençage ne permettant pas de mettre en évidence des réarrangements de grande taille, nous avons mis au point l'étude du gène POLG1 par QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short fluorescent Fragments).

Nous avons réalisé trois PCR multiplex indépendantes pour amplifier les 22 exons codants du gène POLG1. Nous avons testé 51 patients dont 41 avec délétions multiples de l'ADNmt et 9 avec déplétion de l'ADNmt. Ces patients ont été classés en 5 groupes : 1) Ophtalmoplégie externe progressive (8 patients), 2) Ataxie et neuropathie (18 patients), 3) Epilepsie myoclonique, myopathie, ataxie proprioceptive (9 patients), 4) Myocérébrohépatopathie infantile (6 patients), 5) Myopathie isolée (6 patients). 15 patients présentaient soit des mutations pathogènes connues à l'état hétérozygote, soit des variants non décrits potentiellement pathogènes à l'état hétérozygote. Nous n'avons retrouvé aucun réarrangement de grande taille chez les 51 patients. Chez les patients porteurs de mutations à l'état hétérozygote avec phénotype très évocateur de mutation POLG1, nous pouvons penser que d'autres mutations situées dans les régions promotrices ou introniques profondes pourraient également être impliquées. En ce qui concerne les patients avec des pathologies dominantes, il est fortement probable que de nombreux gènes restent à identifier, notamment grâce à l'utilisation des nouvelles techniques de séquençage haut débit.

En conclusion, nous avons mis au point une nouvelle technique permettant de détecter facilement des anomalies quantitatives du gène POLG1 à type de délétions ou de duplications. Nous avons montré que les réarrangements de grandes tailles ne semblent pas être des évènements fréquents dans les pathologies avec instabilité de l'ADNmt. Cette technique a été transférée sur un plan diagnostique, ce qui permettra de tester un plus grand nombre de patients.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P080 - UN NOUVEAU CAS DE DEFICIT EN PROTEINE SCPX CHEZ UNE ADULTE PRESENTANT UNE ATAXIE CEREBELLEUSE, UNE LEUCOENCEPHALOPATHIE ET UNE NEUROPATHIE SENSITIVE

B Audouin (1), D Cheillan (2), S Ferdinandusse (3), E Luangkhot (2), J Pelletier (1), C Vianey-Saban (2), RJ Wanders (3), HR Waterham (3)

1. Service de Neurologie, Assistance Publique Hôpitaux de Marseille- CHU Timone, Marseille, France
2. Service maladies héréditaires du métabolisme, Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
3. Laboratory Genetic Metabolic Diseases, Departments of Clinical Chemistry and Pediatrics, Academic Medical Center at the University of Amsterdam, Amsterdam, Pays-bas

Introduction: Parmi les déficits isolés de la béta-oxydation peroxysomale, l'accumulation d'acides gras à chaîne ramifiée et d'intermédiaires des acides biliaires peuvent conduire à des maladies neurologiques sévères. La protéine SCPx est la dernière enzyme de la béta-oxydation peroxysomale et jusqu'à présent, un seul patient présentant un déficit de cette protéine avait été décrit. Nous rapportons le deuxième cas de déficit en protéine SCPx.

Description clinique: La patiente âgée de 58 ans a présenté une faiblesse des membres inférieurs, une neuropathie sensitive symétrique, une ataxie cérébelleuse et des troubles neuropsychologiques modérés. L'IRM cérébrale a montré une leucoencéphalopathie diffuse. Les investigations métaboliques ont mis en évidence une augmentation de l'acide pristanique, alors que le taux d'acide phytanique et le profil des acides gras à très longue chaîne étaient normaux. Les intermédiaires des acides biliaires étaient indétectables et il y avait une excrétion anormale de glucuronides des alcools biliaires dans l'urine. Une exploration biochimique des fonctions peroxysomales sur fibroblastes a confirmé le déficit en SCPx. L'étude du gène SCP2 a montré la présence d'une mutation intronique c.674+1G>A à l'état homozygote. Malgré la mise en place d'un régime pauvre en acide phytanique depuis 6 mois, aucune amélioration clinique n'a été notée chez cette patiente.

Discussion et conclusion: Comme chez le premier patient déficitaire en protéine SCPx, cette patiente a présenté des symptômes neurologiques associant neuropathie, ataxie cérébelleuse et leucoencéphalopathie mais de début plus tardif (4ème décade). L'excrétion de glucuronides des alcools biliaires a été retrouvée chez ces deux patients et pourrait être considérée comme un marqueur spécifique de cette pathologie. Néanmoins, il est vraisemblable que ce déficit soit sous-diagnostiqué car les anomalies biochimiques sont limitées (augmentation de l'acide pristanique) et ces dosages ne sont réalisés que dans des laboratoires très spécialisés. Ainsi, devant toute suspicion de pathologie peroxysomale, nous préconisons de demander systématiquement, en plus des acides gras à très longue chaîne, un dosage de l'acide phytanique et de l'acide pristanique.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P081 - SYNDROME DE GOLDBERG-SHPRINTZEN : NOUVELLES MUTATIONS DU GENE KIAA1279 ET CONSEQUENCES FONCTIONNELLES

L Drévillon (1), A Megarbane (2), D Gaillard (3), P Benit (4), C Matar (5), A Briand-Suleau (1), J Ghoumid (1), M Nasser (1), V Bodereau (6), M Conti (7), M Doco-Fenzy (3), P Rustin (4), M Goossens (1), I Giurgea (1)

1. Service de Biochimie et Génétique - INSERM U955 équipe 11, Hopital Henri Mondor, Créteil, France
2. Laboratory of Molecular Biology and Cytogenetics, Faculty of Medicine, University Saint-Joseph, Beyrouth, Liban
3. Service de Génétique, IFR53, CHU, UFR de médecine, Reims, France
4. INSERM U676, Hôpital Robert Debré, Paris, France
5. Unité U955, Equipe 07, INSERM and Université Paris-Est, Paris, France
6. Service de Biochimie et Génétique, Hopital Henri Mondor, Créteil, France
7. Service de Biochimie et Génétique, Hopital Henri Mondor et INSERM, Unité U955, Equipe 07, Créteil, France

Le syndrome de Goldberg-Shprintzen (GOSHS, MIM #609460) est une maladie autosomique récessive associant une déficience intellectuelle sévère, une maladie de Hirschsprung et des caractéristiques faciales reconnaissables. Le gène responsable, KIAA1279, code la protéine KBP (KIF-binding protein), à deux domaines TPR (tetratrico peptide repeats) impliqués dans les interactions protéine-protéine. En effet, une première étude a décrit des interactions de KBP avec les protéines de la famille des kinésines et en particulier avec KIF1B-alpha, de localisation mitochondriale. Une deuxième étude a identifié des interactions de KBP avec une protéine de la famille des stathmines, SCG10, et avec certaines tubulines. Cependant, cette dernière étude ne retrouve pas la localisation mitochondriale de KBP initialement rapportée. Une étude chez le zebrafish a montré l'implication de KBP dans la croissance et le maintien neuronal. Le rôle exact de KBP demeure néanmoins inconnu.

L'objectif de notre travail a été d'avancer dans la compréhension du rôle de KBP en s'appuyant sur deux nouvelles mutations de KIAA1279 identifiées chez quatre patients avec GOSHS. Nous avons étudié le retentissement fonctionnel de ces mutations à partir de fibroblastes des sujets porteurs.

Nous décrivons deux familles consanguines, une française et une iranienne, au sein desquelles nous avons identifié deux nouvelles mutations à l'état homozygote (c.599C>A, p.Ser200X et c.604_605delAG, p.Arg202IlefsX2). L'ensemble des mutations du gène KIAA1279 rapportées à ce jour (trois dans la littérature et deux dans cette étude) créent un codon stop prématuré. Nous avons évalué l'implication du mécanisme de NMD (non-sense mediated mRNA decay) dans cette pathologie en étudiant les transcrits et l'expression protéique à partir des fibroblastes des patients et de leurs parents. Une diminution de plus de 90% de l'expression de l'ARNm mature de KIAA1279 et de la protéine a été mise en évidence chez les patients porteurs d'une mutation homozygote ; une diminution de plus de 50% a été observée chez les sujets hétérozygotes. Ces données sont en faveur de la mise en jeu du NMD.

Afin de vérifier le retentissent fonctionnel des mutations sur la mitochondrie, nous avons étudié l'activité de la chaîne respiratoire mitochondriale dans les fibroblastes des patients et avons retrouvé une activité normale. L'étude de la localisation subcellulaire de KBP dans les fibroblastes d'un individu contrôle a montré que la protéine KBP ne co-localise pas avec les mitochondries mais possède une expression cytoplasmique évoquant une localisation cytosquelettique.

Au total, cette étude nous a permis de décrire le phénotype de quatre nouveaux patients avec GOSHS, de démontrer le mécanisme moléculaire de NMD dans cette pathologie et de préciser la localisation de KBP au niveau du cytosquelette, ce qui renforce l'hypothèse de son rôle dans le développement.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P082 - MUTATION INTRONIQUE PROFONDE DANS LE SYNDROME DE USHER DE TYPE 2 : IMPLICATIONS POUR LE DIAGNOSTIC ET PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES

C Vaché (1), T Besnard (2), P Le Berre (1), G García- García (1), D Baux (1), L Larrieu (1), C Abadie (1), C Blanchet (3), HJ Bolz (4), J Millan (5), C Hamel (3), S Malcolm (6), M Claustres (2), AF Roux (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Montpellier, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Inserm U827, Montpellier, France
3. Centre National de Référence maladies rares "Affections Sensorielles Génétiques", CHU, Montpellier, France
4. Institute for Human Genetics, University Hospital of Cologne, Cologne, Allemagne
5. Grupo de Investigación en Enfermedades Neurosensoriales, CIBERER, Valencia, Espagne
6. Clinical and Molecular Genetics, Institute of Child Health, London, Royaume-Uni

Le syndrome de Usher de type 2 est une maladie à transmission autosomique récessive qui est cliniquement caractérisée par la présence d'une surdité neurosensorielle modérée à sévère associée à une rétinite pigmentaire en absence de troubles vestibulaires. Dans 80 % des cas, cette pathologie est liée au gène USH2A. En diagnostic moléculaire, l'étude de ce dernier est classiquement réalisée par séquençage direct de ses 72 exons et de leurs séquences introniques flanquantes ainsi que par QMPSF et CGH array. Si cette approche permet le plus souvent de déterminer les mutations responsables de la pathologie, il reste néanmoins quelques patients pour lesquels les deux événements mutationnels n'ont pas été identifiés. Le but de cette étude est de développer pour ces patients une analyse des transcrits USH2A afin de mettre en évidence des altérations non détectées par les techniques habituellement utilisées. Les transcrits USH2A n'étant pas accessibles à partir d'un prélèvement de sang, nous avons préalablement établi leur présence dans les cellules épithéliales nasales.

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à une famille comprenant 3 sujets atteints sur deux générations possédant un allèle commun potentiellement porteur d'une mutation non identifiée (après séquençage des exons et recherche de grands réarrangements). À partir d'analyses RT-PCR, nous avons établi un transcrit « full-length » USH2A qui a permis de mettre en évidence l'insertion d'un pseudo-exon de 152pb entre les exons 40 et 41. Nous avons démontré par un test fonctionnel que l'ajout de ce pseudo-exon était lié à la présence d'une mutation intronique profonde c.7595-2144A>G à l'origine de l'activation d'un nouveau site donneur d'épissage. Enfin, la recherche de cette mutation sur une cohorte de patients français et une cohorte de patients espagnols a permis d'identifier huit nouvelles familles porteuses de cette altération.

Cette étude montre pour la première fois dans le syndrome de Usher l'implication d'un pseudo-exon en tant que mécanisme pathogène et souligne l'importance de compléter les analyses ADN par des analyses ARN. De par la fréquence de la mutation c.7595-2144A>G dans deux populations européennes, nous proposons d'inclure son étude dans le cadre d'un diagnostic moléculaire. Enfin, la caractérisation de ce mécanisme permet pour la première fois d'envisager pour les patients Usher une future approche thérapeutique basée sur le saut d'exon via l'utilisation d'oligonucléotides anti-sens.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P083 - SYNDROME DE MEIER-GORLIN : ETUDE CLINIQUE ET MOLECULAIRE CHEZ 2 PATIENTS ET REVUE DE LA LITTERATURE.(MEIER-GORLIN SYNDROM : CLINICAL AND MOLECULAR RESEARCH OF 2 PATIENTS AND LITERATURE REVIEW)

C CORSINI (1), P BLANCHET (1), E BONGERS (2), F COUNIL (3), G CAPTIER (4), M BIGORRE (5), F PARIS (6), C JEANDEL (6), JL FERRAN (7), P SARDA (1), D GENEVIEVE (8)

1. Département de Génétique Médicale, CHRU Montpellier, Université Montpellier 1, Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs, Hôpital Arnaud De Villeneuve, Montpellier, France
2. Department of Human Genetics, Institute for Genetic and Metabolic Disease, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, Pays-bas
3. Service Pneumologie Pédiatrique, Hôpital Arnaud De Villeneuve, Montpellier, France
4. Chirurgie Plastique Infantile, Hôpital Lapeyronie, montpellier, France
5. Chirurgie Plastique Infantile, Hôpital Lapeyronie, Montpellier, France
6. Service Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Arnaud De Villeneuve, Montpellier, France
7. Service de Radiologie Pédiatrique, Hôpital Arnaud De Villeneuve, Montpellier, France
8. Département de Génétique Médicale, CHRU Montpellier, Université Montpellier 1, Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs,Unité Inserm U844, Hôpital Arnaud De Villeneuve et Institut des neurosciences de Montpellier, Montpellier, France

Le syndrome de Meier-Gorlin (SMG ou Ear-Patella-Short stature Syndrome –EPS- OMIM 224690) est une pathologie du développement caractérisé par un retard de croissance sévère pré et post-natal (RCPN) associé à une microtie, une micromandibulie et une absence /hypoplasie des rotules. Habituellement il n'y a pas de déficience intellectuelle. Il s'agit d'une affection autosomique récessive. Le SMG est génétiquement hétérogène avec 5 gènes (ORC1, ORC4, ORC6, CDT1 et CDC6) qui jouent un rôle dans le complexe de pré-réplication de l'ADN.

Il s'agit d'une pathologie rare avec seulement 42 patients décrits dans la littérature. Nous rapportons deux patients avec SMG dont l'un présente une mutation homozygote dans le gène CDC6 tandis que pour l'autre l'analyse moléculaire est en cours. Le premier enfant, issu d'un mariage entre apparentés, est un garçon amical et sympathique âgé de 15 ans ayant présenté un retard de croissance intra-utérin harmonieux (PCN à -3,5 DS, PN à -2,5 DS et TN à -4 DS), une microtie bilatérale, une hypoplasie majeure des rotules, des difficultés alimentaires en période néonatale, un hypogénitalisme associé à une cryptorchidie, une bronchopathie chronique mixte et un retard d'âge osseux. La deuxième patiente, une enfant au caractère agréable de 8 ans dont les parents sont cousins germains, est née à 37 semaines d'aménorrhée avec un retard de croissance dysharmonieux (PCN à -1 DS, PN à -3,5 DS et TN à -4,5 DS), une microtie et une hypoplasie des rotules. Elle a ensuite présenté des difficultés alimentaires en période néonatale puis des infections bronchiques et ORL fréquentes, une surdité de transmission légère bilatérale, une hypoplasie mammaire, une hyperlaxité et un retard d'âge osseux.

Notre revue de la littérature, identifie un RCPN dans 90% des cas, une microtie dans 90%, une micromandibulie dans 84% et une absence de rotule dans 61%/hypoplasie des rotules dans 23%. La déficience intellectuelle est retrouvée dans 6% des cas. L'hypoplasie mammaire chez les filles est constante (100%); les difficultés alimentaires en période néonatale sont très fréquentes (89%), la cryptorchidie est présente dans 75 % des cas, le retard d'âge osseux dans 73 %, et l'hyperlaxité ligamentaire dans 62%.

Les 5 gènes du SMG codent pour des protéines du complexe de pré-réplication qui agissent pendant le cycle cellulaire. L'identification récente de causes génétiques de pathologies avec retard de croissance sévère ou avec microties et micrognatie tels que le syndrome de Seckel, le Microcephalic Osteodysplastic Primordial Dwarfwism de type II et le syndrome de Treacher-Collins, suggère l'émergence d'un nouveau groupe de pathologies par anomalies du cycle cellulaire.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P084 - DEUX NOUVELLES DELETIONS DE L'ADN MITOCHONDRIAL (9.768 ET 7.253 KB) DANS LES LEUCOCYTES, LA MUQUEUSE BUCCALE ET LES CHEVEUX D'UNE PATIENTE ATTEINTE D'UN SYNDROME DE KEARNS-SAYRE

E Mkaouar-Rebai (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie

Le syndrome de Kearns-Sayre (KSS) est une myopathie mitochondriale qui débute généralement avant l'âge de 20 ans et qui se caractérise essentiellement par une ophtalmoplégie progressive externe, une rétinite pigmentaire associées à diverses autres atteintes cardiaques et musculaires. Les cas de KSS sont souvent sporadiques et associées à des délétions de l'ADN mitochondrial. Notre étude a porté sur une patiente Tunisienne âgée de 13 ans qui présente un tableau clinique typique du syndrome de Kearns-Sayre. En effet, elle a montré un retard staturo-pondéral, une ataxie, des crises d'épilepsie, une rétinite pigmentaire, une ophtalmoplégie, un diabète, un ptosis et une hypoparathyroïdie. Elle a aussi montré un trouble de la marche avec une atrophie musculaire essentiellement des membres inférieurs. Son IRM a montré atteinte bilatérale et symétrique des noyaux gris centraux et du tronc cérébral. L'amplification par Long-range PCR de l'ADN extrait à partir des leucocytes, de la muqueuse buccale et des cheveux de cette patiente a montré la présence de délétions multiple de l'ADN mitochondrial. En effet, nous avons retrouvé la délétion commune de 4,977 kb, mais aussi 2 nouvelles délétions hétéroplasmiques de 9.768 kb (nt6124-nt15893) et 7.253 kb (nt8572-nt15826) éliminant plusieurs gènes codant des ARNt ou des protéines de la chaîne respiratoire mitochondriale. En outre, le séquençage automatique de la totalité de l'ADNmt a montré la présence de 19 polymorphismes classant cette patiente sous l'haplogroupe N*.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P085 - DPY19L2, GENE MAJEUR DE LA GLOBOZOOSPERMIE

E ElINATI (1), P Kuentz (1), C Redin (2), S Jaber (1), I Koscinski (3), A Demirol (4), T Gurgan (4), N Louanjli (5), N Iqbal (6), JM Grillo (7), J Muller (8), S Viville (1)

1. Developpement et cellules souches, IGBMC, ILLkirch, France
2. Médecine translationelle et neurogénétique, IGBMC, ILLkirch, France
3. Service de Biologie de la Reproduction, Centre Hospitalier Universitaire, Strasbourg, France
4. Clinic Women Health, Infertility and IVF Center, Ankara, Turquie
5. Laboratoire LABOMAC, Laboratoire LABOMAC, Casblanca, Maroc
6. King Faisal Specialist Hospital & Research Center, King Faisal hospital, Jeddah, Arabie saoudite
7. Département d'Urologie, AP-HM Salvatore, Marseille, France
8. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Centre Hospitalier Universitaire, Strasbourg, France

L'infertilité est définie comme l'incapacité de concevoir après un an de rapports sexuels non protégés. Elle touche environ 15% des couples et dans 50% des cas elle est due à un facteur masculin. Nous sommes intéressés au laboratoire par le versant génétique de l'infertilité et notamment la globozoospermie. Cette tératozoospermie monomorphe particulière est caractérisée par la présence de spermatozoïdes à tête ronde sans acrosome. Le génotypage d'une famille jordanienne consanguine constituée de 4 frères globozoospermiques et de 3 frères fertiles sur puce Affymetrix, a permis de localiser un nouveau gène responsable de la globozoospermie situé dans un intervalle de 6.4Mb en 12q14.2. Au regard de son expression prédominante dans le testicule et l'implication de son orthologue, chez C. elegans, dans la polarisation cellulaire, le gène DPY19L2 est un gène candidat parfait. Le gène, codant pour une protéine transmembranaire, est flanqué par deux séquences répétées (LCRs) qui partagent 96,5% d'identité. Une délétion de 200Kb englobant l'ensemble du gène a été mise en évidence chez les 4 frères infertiles de cette famille jordanienne ainsi que chez 3 autres patients non apparentés (Koscinski et al. 2011). Le mécanisme sous-jacent de la délétion est très probablement une recombinaison homologue non allélique (NAHR) entre les LCRs. Dans notre étude initiale, nous avions identifié uniquement 19% de nos patients présentant une telle délétion. En revanche, un taux beaucoup plus élevé de 75% a été décrit dans une cohorte de 20 patients tunisiens (Harbuz et al. 2011). Cet écart est probablement lié à la différence de recrutement des deux cohortes (nos patients ont différentes origine éthniques). Afin d'obtenir une meilleure idée de la fréquence de l'implication de DPY19L2 dans la globozoospermie, nous avons recruté une plus grande cohorte de patients. Parmi ces patients, 7 sont homozygotes pour la délétion de DPY19L2, et 3 sont hétérozygotes composites associant la délétion hétérozygote et une mutation ponctuelle. En outre, nous avons identifié, 3 patients avec des mutations ponctuelles homozygotes dont un présente une délétion des exons 5 et 6 certainement due à un mécanisme de non-homologous end-joining (NHEJ). Par conséquent, la fréquence d'implication de DPY19L2 s'élève à 65%. En tout, 9 points de cassures, regroupés en deux hot-spots au sein des LCRs, ont pu être mis en évidence. En conclusion, nous confirmons que DPY19L2 est le gène principal de la globozoospermie et nous élargissons le spectre des mutations possible dans ce gène (mutations faux sens, non sens et délétion partielle). Ceci est une indication majeure pour effectuer un diagnostic moléculaire efficace, il est donc important de ne pas limiter la recherche de mutation à la seule délétion complète du gène. Nous poursuivons nos travaux par l'analyse de deux frères globozoospermiques consanguins par le séquençage de leur génome complet afin d'identifier un nouveau gène de globozoospermie.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P086 - UNE NOUVELLE MUTATION DE SPATA16 RESPONSABLE DE GLOBOZOOSPERMIE

C Fossard (1), E ElINATI (2), S Hennebicq (3), PF Ray (4), I Koscinski (5), S Viville (2)
1. Service de Biologie de la Reproduction, Centre Hospitalier Universitaire, Strasbourg, France
2. Developpement et cellules souches, IGBMC, ILLkirch, France
3. Centre d'AMP-CECOS, CHU de Grenoble, Grenoble, France
4. Laboratoire AGIM, FRE 3405 CNRS - UJF, Equipe Génétique Infertilité et Thérapeutique, Grenoble, France
5. Service de Biologie de la Reproduction, Centre Hospitalier Universitaire, Strasbourg, France

La globozoospermie est une maladie rare (incidence

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P087 - EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE DE L'HEMOCHROMATOSE DE TYPE 4 OU « FERROPORTIN DISEASE » - CARACTERISATION CLINIQUE, THERAPEUTIQUE ET FONCTIONNELLE DE NOUVEAUX VARIANTS

JL Bergé-Lefranc (1), E Cadet (2), H De Verneuil (3), C Férec (4), C Ged (3), V Gérolami (1), I Gourlaouen (5), B Grandchamp (6), R Joubrel (4), C Ka (4), C Kannengiesser (6), G Le Gac (4), JB Nousbaum (7), C Oudin (6), S Pissard (8), O Réseau national des laboratoires pratiquant le diagnostic par biologie moléculaire de maladies rares du métabolisme du fer (9), J Rochette (10)

1. Laboratoire de Biologie Moléculaire, AP-HM, CHU Conception, MARSEILLE, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Amiens Picardie, Inserm UMR 925, AMIENS, France
3. Laboratoire de Biochimie, CHU - Hôpital Pellegrin, Inserm UMR 1035, BORDEAUX, France
4. Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, CHRU - Hôpital Morvan, Inserm UMR 613, BREST, France
5. Inserm UMR 613, EFS - Bretagne, BREST, France
6. Laboratoire de Biochimie et de Génétique, AP-HP, CHU Bichat, Inserm U773, PARIS, France
7. Hépato-Gastroentérologie, CHRU - Hôpital Cavale BlancheI, Inserm UMR 613, BREST, France
8. Laboratoire de Biochimie et de Génétique, AP-HP, CHU Mondor, Inserm UMR 955, CRETEIL, France
9. 0, 0, 0, France
10. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU d'Amiens, Inserm UMR 925, AMIENS, France

Contexte de l'étude : L'hémochromatose de type 4 - ou «ferroportin disease» - est une maladie rare de transmission autosomique dominante, mais elle n'est sans doute pas aussi exceptionnelle que les formes d'hémochromatose liées aux gènes HJV, HAMP et TFR2. Sur le plan moléculaire, un spectre de plus en plus large de mutations permet de rendre compte de la maladie. Mais ces mutations sont quasi-exclusivement privées et, le plus souvent, elles correspondent à des substitutions. Par ailleurs, ces mutations se répartissent en deux catégories fonctionnelles (perte et gain de fonction) qui sont associées à deux présentations cliniques distinctes.

Objectifs : Nous avons mis en œuvre un PHRC national visant à : i) recenser les situations de surcharges en fer potentiellement causées par des anomalies du gène SLC40A1, ii) décrire l'impact fonctionnel de nouveaux variants et, iii) mieux caractériser la pathologie au plan biologique, clinique et thérapeutique.

Résultats : 1-Spectre mutationnel. Nous avons recensé 25 variations ponctuelles correspondant à 32 cas index et huit structures familiales, soit la plus grande collection rapportée à ce jour. Les 25 variations se répartissent en une délétion et 24 variations faux sens. 2- Tests fonctionnels. Les tests fonctionnels réalisés permettaient d'apprécier l'adressage de la ferroportine à la surface de la cellule, sa capacité à exporter le fer et sa propension à résister à une régulation négative par l'hepcidine. Pour certaines variations des mini-gènes ont également été créés. Sur la base de ces tests in vitro, nous démontrons un mécanisme de perte de fonction (adressage membranaire/export du fer) pour 11 variants et rapportons quatre relations structure/fonction originales. 3- Corrélations génotypes phénotypes : L'association des données génétiques, biologiques, cliniques et fonctionnelles a permis une meilleure définition de la causalité de chacune des variations recensées ; plusieurs d'entres elles devant d'ailleurs être considérées comme non délétères. Nous confirmons l'apparition d'une anémie chez certains patients porteurs d'une mutation du type perte de fonction lors d'un traitement soutenu par saignées itératives.

Conclusions : Ce travail a été rendu possible par l'implication de six laboratoires du réseau national « maladies rares du métabolisme du fer ». Il permet une description très précise des mutations du gène SLC40A1 pouvant être observées sur le territoire. Basé sur des descriptions cliniques homogènes et des caractérisations fonctionnelles, il permet également une évaluation objective de la causalité des variants rares identifiés. Une des valorisations de ce travail va consister en la mise en place d'une base de données de type UMD® afin de rendre disponible (via internet) la liste des variations, leurs conséquences fonctionnelles et le groupe

phénotypique associé. De fait, notre étude va permettre d'améliorer le diagnostic moléculaire de l'hémochromatose de type 4 et le conseil génétique.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P088 - MANIFESTATIONS RENALES DANS LES CYTOPATHIES MITOCHONDRIALES: A PROPOS D'UNE SERIE DE 45 PATIENTS

o Boyer (1), as Lebre (2), A Munnich (2), m Rio (3), P Niaudet (1), A Rötig (4)

1. Néphrologie Pédiatrique, hôpital Necker, paris, France
2. service de génétique, hôpital Necker, paris, France
3. service de génétique, hôpital Necker, 75015, France
4. INSERM 781, hôpital Necker, paris, France

Les cytopathies mitochondriales regroupent des pathologies hétérogènes cliniquement et génétiquement dont le dénominateur commun est un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale. Elles peuvent donner théoriquement n'importe quel symptôme, toucher n'importe quel organe ou tissu et à n'importe quel âge. Les atteintes les plus fréquentes sont neuromusculaires. Les manifestations rénales sont rares mais possibles. Nous rapportons une série de 45 patients atteints de cytopathies mitochondriales avec atteinte rénale. Les manifestations rénales avaient débuté à tout âge, de la naissance à l'âge de 41 ans. Elles étaient rarement le premier symptôme de la maladie mitochondriale (3 patients). Dans la plupart des cas, l'atteinte rénale était associée à une atteinte neurologique ou multisystémique. L'atteinte rénale la plus fréquente était une tubulopathie proximale, complète ou non. Syndrome néphrotique cortico-résistant avec lésions histologiques de hyalinose segmentaire et focale (10 patients) et néphropathie tubulo-interstitielle chronique (8 patients) étaient plus rares. Une anomalie qualitative de l'ADN mitochondrial a été identifiée chez 5 patients dont 4 mutations ponctuelles (mt3243A> G, mt13514A> G, mt9185T> C), et 1 grande délétion. Des mutations dans des gènes nucléaires ont été identifiées chez 15 patients. Cinq patients ayant présenté une acidose lactique précoce avec atteinte hépatique et atteinte neurologique avaient un déficit du complexe III de la chaîne respiratoire en rapport avec des mutations dans le gène BCS1L. Six patients ayant présenté une atteinte multisystémique néonatale avec tubulopathie proximale avaient une déplétion de l'ADN mitochondrial dans le muscle en rapport avec des mutations dans le gène RRM2B. 4 patients avaient un défaut de biosynthèse du coenzyme Q10, en rapport avec des mutations dans les gènes COQ2 et PDSS2. Les deux patients avec mutation PDSS2 présentaient l'association d'une surdité, d'anomalies oculaires, d'une ataxie et d'un syndrome néphrotique avec insuffisance rénale terminale. Ils ont été transplantés avec succès à 8 et 9 ans et un traitement substitutif par Coenzyme Q10 a permis une amélioration de certains symptômes. Enfin, 25 patients avaient une symptomatologie clinique et biochimique évocatrice d'une cytopathie mitochondriale, sans base moléculaire identifiée à ce jour. En conclusion, les manifestations rénales dans les cytopathies mitochondriales ne sont pas associées à des mutations spécifiques nucléaires ou mitochondriales, ni associées à un déficit spécifique de la phosphorylation oxydative. Savoir les reconnaître peut avoir un impact thérapeutique puisque les manifestations rénales secondaires à des déficits en coenzyme Q10 liés par exemple, à des mutations des gènes COQ2, COQ6 ou PDSS2, peuvent être améliorées par une supplémentation orale quotidienne en ce coenzyme.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P089 - NEWS PKD1 GENE MUTATIONS IN BENINESE FAMILIES WITH AUTOSOMAL DOMINANT POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE

LALEYE A.[1] , AWEDE B [2] , AZONBAKIN S.[1], AGBOTON B.[3], BIAOU O.[4] , ADJAGBA M.[1] AND DARBOUX R. [1]

[1] UFR de Biologie Humaine, Faculté des Sciences de la Santé (FSS). Université d'Abomey-Calavi (UAC), Cotonou Bénin

[2] UFR de Physiologie Humaine, Faculté des Sciences de la Santé (FSS). Université d'Abomey-Calavi (UAC), Cotonou Bénin

[3] Clinique Universitaire de Néphrologie et d'Hémodialyse, CNHU-HKM, Cotonou Bénin

[4] Service de Radiologie, CNHU-HKM, Cotonou Bénin

Autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) is the most common hereditary kidney disease, characterized by progressive development of intra-renal cysts associated with extra-renal cysts manifestations and intracranial aneurysms. It is a genetically heterogeneous disorder with two genes identified: PKD1 in 85% and PKD2 in 15% associated with an allelic heterogeneity with different mutations. A third unidentified gene is involved in few families. This disease, described in all races with a similar incidence in both Caucasian and black of USA is poorly known in sub-Sahara Africa. In Benin, while the diagnosis of ADPKP is evoked, there is not yet a specific study on it. Thus, we undergo the present study involving PKD1 gene mutations and clinical aspects of ADPKD in our population.

Direct sequencing of the genes of polycystin 1 disclosed new mutations: four nonsense mutations (p.Q2824X, p.Q1651X, p.W1666X p.R966W and exon 12), one duplication (c _1761 .1745 dup exon 9), one deletion (c.9397+1_9397+8del intron 26) and one deletion-insertion (c.7290_7291delinsCTGCA). None of these mutations identified have yet been described in the database of mutations ADPKD. They are therefore new mutations to be included in the international database of the polycystic kidney disease.

The hospital prevalence of ADPKD in the University Clinic of Nephrology of Cotonou during the ten last years was estimated at 18 per 1000. The mean age of patients was 47.2 years extending from 29 to 70 years. Males were predominant, the sex ratio was1.13. Family history was found in 47% of patients. The most common manifestations were lumbar pain (62%), high blood pressure (59%) urinary tract infections (53%), hematuria (46%), and abdominal masses (43%). Liver cysts were the most extra renal manifestation found in 34% of cases. Renal failure was observed in 72% of patients of our series, six of them were under dialysis.

To our knowledge, mutational studies in the genes of ADPKD in sub-Sahara Africa have not been yet undertaken. Also, our results suggest that the mutational basis of ADPKD in black African might be different from those of Caucasian and American.

Key words: Autosomal dominant polycystic kidney disease, Polycystin 1, mutation, renal failure.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P090 - PROTEOMIC IDENTIFICATION OF CALUMENIN AS A G551D - CFTR ASSOCIATED PROTEIN

N Benz (1), C Férec (1), M Kerbirioua (1), S Le Hir (1), O Mignen (1), M Taiya (2), L Teng (1), P Trouvé (1)

1. Inserm, UMR 613, Brest, France
2. Service de spectrométrie de masse, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France

Cystic fibrosis (CF) is the most common lethal autosomal recessive disease in the Caucasian population. It is due to mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene. To date, over 1800 mutations have been identified in the CFTR gene. Among these mutations, the CF-causing missense mutation G551D-CFTR (approx. 5% of cases) encodes for a CFTR chloride channel with normal expression on the cell surface. Nevertheless, it is associated with severe disease due to its altered channel activation. The aim of the present study was to identify specific interacting proteins of G551D-CFTR. Membrane proteins from Wt-CFTR and G551D-CFTR expressing cells were extracted and resolved by 2D-gel electrophoresis (2-DE). Mass Spectrometry revealed that calumenin was only present in the proteins extracted from G551D-CFTR expressing cells. Despite its basal expression was not modified in G551D-CFTR expressing cells when compared to Wt-CFTR, it was more abundant in the G551D-CFTR complex detected by immunoprecipitation. Proteins associated with calumenin were resolved by 2-DE and the spots were analyzed by MS. The results indicated that calumenin is bound to chaperones, cytoskeleton proteins and Grp78/Bip which is involved in the Unfolded Protein Response (UPR). Therefore, we showed for the first time that calumenin may be involved in the physiopathology linked to G551D-CFTR and we suggest that G551D-CFTR may follow a specific maturation and trafficking pathway. Our results lead to the hypothesis that UPR may be triggered independently of the retention of G551D-CFTR in the ER.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P091 - REGION 14Q12, GENE FOXG1 ET ENCEPHALOPATHIES APPARENTEES AU SYNDROME DE RETT: A PROPOS DE 7 NOUVEAUX CAS ET CARTOGRAPHIE PHYSIQUE D'UN ELEMENT REGULATEUR DE FOXG1

L ALLOU (1), L LAMBERT (1), D AMSALLEM (2), E BIETH (3), A DESTREE (4), D AMOR (5), C NEMOS (1), A SAUNIER (6), A MOUSTAINE (6), P JONVEAUX (1), C PHILIPPE (1)

1. EA4368 Déficiences mentales et anomalies de structure du génome, Université Henri Poincaré Nancy I_ Faculté de Médecine, Vandoeuvre les Nancy, France
2. Service de neuropédiatrie, Hopital ST Jacques, Besançon, France
3. Service de Génétique Médicale, Hopital Purpan, Toulouse, France
4. Service de Génétique Médicale, Institut de Génétique Humaine, Charleroi, Belgique
5. Murdoch Children's Research Institute, Royal children's hospital, Melbourne, Australie
6. Service de Génétique Médicale, CHU Nancy Brabois, Vandoeuvre les Nancy, France

Le syndrome de Rett (RTT) est une encéphalopathie progressive d'origine génétique. Il s'agit d'une pathologie génétiquement hétérogène avec trois gènes impliqués à ce jour (MECP2, CDKL5 et FOXG1).

Le gène FOXG1 (Forkhead bOX G1) a été impliqué récemment dans la forme congénitale du syndrome de Rett caractérisée par une microcéphalie sévère (-4 DS à -6 DS), un retard mental sévère, une absence de langage, des mouvements dyskinétiques et une dysgénésie du corps calleux (Kortüm et al., J Med Genet 2011). Ce gène code un répresseur de la transcription appartenant à la famille de protéines 'Fokhead Box' qui joue un rôle clé dans le développement du télencéphale.

Nous présentons dans cette étude deux mutations ponctuelles du gène FOXG1 (c.256dupC et c.256delC) et cinq délétions de la région 14q12 chez des patient(e)s présentant un phénotype très évocateur du syndrome FOXG1. De façon surprenante, 3 microdélétions sont proches de FOXG1 (entre 0.1 et 0.7 Mb) mais n'englobent pas ce gène. Notons que toutes ces délétions distales à FOXG1 englobent le gène PRKD1. L'évaluation de l'effet des CNV en 14q12 sur l'expression du gène FOXG1 montre des variations du taux de transcrits pour ce gène au niveau de fibroblastes en culture. Ces variations suggèrent l'existence d'un élément cis-régulateur négatif pour FOXG1 au niveau transcriptionnel. Des études bioinformatiques nous permettent de proposer quatre séquences régulatrices potentielles localisées à plus de 0.6Mb en aval de FOXG1. Nous avons réalisé un criblage mutationnel par séquençage systématique et PCR quantitative du gène PRKD1 mais également des 4 séquences régulatrices hautement conservées chez 20 patient(e)s présentant un phénotype évocateur d'un syndrome FOXG1. Aucune anomalie n'a été détectée dans PRKD1. Nous avons identifié une variation de séquence de signification inconnue (g.29961449G>T ; non répertoriée comme SNP) dans un des 4 éléments régulateurs que nous proposons dans cette étude pour FOXG1. Le caractère de novo ou hérité de cette variation de séquence nucléotidique n'a pas encore été établi.

En conclusion, nous présentons dans cette étude sept patient(e)s supplémentaires avec un syndrome FOXG1 qui nous permettent de préciser le phénotype de ce syndrome. De plus, nous proposons l'existence d'un élément cis-régulateur négatif de l'expression de ce gène localisé dans le segment génomique [chr14 :29.875.672-30.303.083 (hg19)]. Ces données sont importantes pour les cliniciens mais également pour les biologistes moléculaires impliqués dans le suivi de patient(e)s avec des encéphalopathies sévères évocatrices d'un syndrome FOXG1.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P092 - ETUDE PHENOTYPIQUE DU SYNDROME DE SIMPSON-GOLABI-BEHMEL SUR UNE SERIE DE 39 PATIENTS.

E Cottereau (1), I Mortemousque (1), L Bürglen (2), D Lacombe (3), B Gilbert (1), O Boute (4), L Faivre (5), S Sigaudy (6), E Moreau (6), D Héron (7), R Robertson (8), J Van den Ende (9), J Amiel (10), A David (11), F Viana Ramos (12), E Bieth (13), G Baujat (10), M Willems (10), L Pinson (14), P Blanchet (14), MF Frouté (15), V Cormier-Daire (10), M Mathieu (16), B Demeer (16), S Odent (17), M Tauber (18), L Van Maldergem (19), A Verloes (20), M Lackmy-Port Lis (21), I Ratbi (22), A Goldenberg (23), N Philip (6), D Bonneau (24), MP Moizard (1), S Rossignol (25), A Toutain (1)

1. Service de Génétique, CHU de Tours, Tours, France
2. Service de Génétique, CHU Trousseau, Paris, France
3. Service de Génétique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
4. Service de Génétique, CHU de Lille, Lille, France
5. Service de Génétique, CHU de Dijon, Dijon, France
6. Service de Génétique, CHU de Marseille, Marseille, France
7. Service de Génétique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
8. Ultrasound departement for women, Sydney's hospital, Sydney, Australie
9. Centrum Medische Genetica, Universiteit, Antwerpen, Belgique
10. Service de Génétique, CHU Necker-Enfants Malades, Paris, France
11. Service de Génétique, CHU de Nantes, Nantes, France
12. Serviço de Genética, Hospital Pediatrico, Coimbra, Portugal
13. Service de Génétique, CHU de Toulouse, Toulouse, France
14. Service de Génétique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
15. Service Maternité, Hôpital Bagatelle, Talence, France
16. Service de Génétique, CHU d' Amiens, Amiens, France
17. Service de Génétique, CHU de Rennes, Rennes, France
18. Service de Pédiatrie, CHU de Toulouse, Toulouse, France
19. Service de Génétique, CHU de Besançon, Besonçon, France
20. Service de Génétique, CHU Robert Debré, Paris, France
21. Service de Pédiatrie, CHU de Pointre à Pitre, Pointre à Pitre, France
22. Service de Génétique, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
23. Service de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
24. Service de Génétique, CHU d' Angers, Angers, France
25. Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, CHU Trousseau, Paris, France

Le syndrome de Simpson-Golabi-Behmel (SSGB) est un syndrome rare lié à l'X, décrit par Simpson et al. en 1975 puis par Golabi et Rosen, et Behmel et al. en 1984. Il se caractérise par une avance de croissance pré- et postnatale, une morphologie craniofaciale reconnaissable, une macrocéphalie, des malformations congénitales variées, une viscéromégalie avec un risque accru de tumeurs et un déficit intellectuel (DI) léger/modéré dans certains cas. En 1996, des mutations causales ont été identifiées dans le gène GPC3 en Xq26, qui est le gène majeur du SSGB et code pour une protéoglycane extracellulaire appartenant à la famille des glypicans. Depuis les premières descriptions de SSGB, de nombreux autres cas ont été rapportés avec une grande variété de symptômes et de sévérité. Quelques cas étaient significativement différents par leur présentation clinique atypique avec un pronostic plus sévère et/ou plus de malformations congénitales. Toutefois, ces descriptions furent faites avant que les études moléculaires ne soient disponibles. Par ailleurs, le taux de détection de mutation de GPC3 chez les patients avec un diagnostic de SSGB est seulement de 37% à 70%. Tout ceci suggère que certains patients pourraient avoir une autre affection. Ainsi, un syndrome polymalformatif considéré comme une forme sévère du SSGB, encore appelé variant infantile létal, et désigné par SGBS2 car le locus est en Xp22, est maintenant reconnu comme une entité différente avec chevauchement phénotypique. Enfin, il faut signaler que dans la famille décrite par Golabi et Rosen, une duplication intragénique de GPC4, codant pour un autre membre de la famille des glypicans et localisé juste à côté de GPC3 du côté centromérique, a récemment été identifiée, suggérant une hétérogénéité du SSGB et que GPC4 pourrait être le second gène en cause.
Pour mieux définir le spectre phénotypique du SSGB dû à des mutations de GPC3, et essayer de définir des critères cliniques spécifiques pour l'analyse moléculaire de GPC3, nous avons

entrepris d'analyser les signes cliniques de tous les patients de sexe masculin chez qui une mutation de GPC3 a été identifiée par l'un des 2 laboratoires français testant ce gène (Tours et Paris). Pour cela, nous avons envoyé aux cliniciens référents un questionnaire destiné à recueillir l'ensemble des éléments cliniques des patients. Ce questionnaire, établi à partir des données de la littérature, portait sur les données prénatales (biométrie fœtale, hydramnios, malformations) et postnatales (croissance staturo-pondérale, malformations, dysmorphie, survenue de néoplasies, développement psychomoteur). Nous présentons les résultats obtenus sur les 39 patients (appartenant à 29 familles et incluant 7 fœtus ou enfants morts-nés) retenus pour cette étude.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P093 - PREVALENCE ELEVEE DES LAMINOPATHIES CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE SYNDROME METABOLIQUE

P ROLL (1), A DUTOUR (2), S COURIER (1), B GABORIT (2), F ANGELIS (3), P CAU (1), N LESAVRE (4), MC ALESSI (5), A ROBAGLIA-SCHLUPP (1), N LEVY (1), PE MORANGE (6), C BADENS (7)

1. INSERM UMR_S910, Faculté de Médecine Timone, MARSEILLE, France
2. Service d'Endocrinologie, Hôpital Nord, MARSEILLE, France
3. CIML, Parc scientifique et technologique de Luminy, MARSEILLE, France
4. CIC, Hôpital Nord, MARSEILLE, France
5. INSERM UMR_S626, Faculté de Médecine Timone, MARSEILLE, France
6. Laboratoire d'Hématologie, Hôpital de la Timone, MARSEILLE, France
7. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital de la Timone, MARSEILLE, France

Les laminopathies constitutionnelles telles que la lipodystrophie partielle familiale de Dunnigan (OMIM #151660), sont des maladies graves dues à des mutations des protéines lamines de type A. Elles partagent plusieurs caractéristiques du syndrome métabolique (SM).

Dans cette étude, nous avons émis l'hypothèse que le SM pouvait être, dans certains cas, une forme légère de laminopathie. Nous avons utilisé la présence d'anomalies nucléaires observées habituellement au cours des laminopathies, comme un test de dépistage chez les patients souffrant d'une forme commune de SM. 87 patients atteints de SM ont été recrutés de manière prospective, et des anomalies de morphologie nucléaire (>20% de noyaux dysmorphiques) et de distribution nucléoplasmique de la lamine A ont été systématiquement recherchés dans les cellules lymphoblastoïdes de ces patients. En parallèle, cinq gènes codant pour les lamines de type A et les enzymes impliquées dans la voie de maturation de la lamine A, ont été systématiquement séquencés (LMNA, ZMPSTE24, ICMT, FNTA et FNTB).
Nous avons identifié chez 10 patients (11.5%) un phénotype cellulaire anormal associant des dysmorphies nucléaires marquées et des anomalies de distribution nucléaire des lamines A/C. Ces patients n'étaient pas cliniquement différents de ceux qui ne présentaient pas d'anomalies nucléaires, excepté qu'ils étaient plus jeunes (50,2 vs 56,6 ans, p=0.03) et avaient des taux sanguins plus élevés de triglycérides (3,39 vs 2,14 mmol/l, p=0.03) et d'alanine aminotransferase (66 vs 43,1 UI/l, p=0.03). Trois d'entre eux avaient une mutation hétérozygote des gènes LMNA (c.1232 G > A et c.1893G > A) ou ZMPSTE24 (c.1312 C > T), codant pour l'une des enzymes de maturation de la lamine A. Ces mutations de type faux-sens (p.G411D et p.G631D pour la lamine A/C, p.L438F pour ZMPSTE24) n'avaient jamais été décrites précédemment, et étaient prédites in silico comme étant pathogènes. Nous avons montré une accumulation de prélamine A, précurseur de la lamine A, dans les fibroblastes dermiques du patient porteur de la mutation de ZMPSTE24, et confirmé in vitro par une étude fonctionnelle, une altération de la voie de maturation de la lamine A chez ce patient. Les deux formes mutées des protéines lamines que nous avons identifiées sont actuellement étudiées par transfections dans des fibroblastes humains. Enfin, les 7 autres patients avec anomalies nucléaires ne présentaient pas de mutation ni dans les gènes testés en première intention (LMNA, ZMPSTE24, ICMT, FNTA et FNTB), ni dans RCE1.

L'ensemble de ces résultats montrent pour la première fois, qu'une proportion importante des patients atteints de SM présentent une laminopathie et suggèrent que l'étude systématique de la lamine A, des protéines impliquées dans sa maturation et de ses partenaires devrait être effectuée au moment du diagnostic de ce syndrome.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P094 - IDENTIFICATION D'UN TRANSCRIPT DELETE ADDITIONNEL DANS UNE COHORTE DE PATIENTS ATTEINTS DE SYNDROMES PROGEROIDES ET PORTEURS DE MUTATIONS DU GENE LMNA

F Barthélémy (1), C Navarro (1), N Da Silva (1), S Sigaudy (2), R Wevers (3), C Marcelis (4), J Oshima (5), G Bonne (6), M Lemerrer (7), N Lévy (8), M Bartoli (1), A De Sandre Giovannoli (8)

1. Inserm UMRS_910, Aix-Marseille Université, Marseille, France
2. Département de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone Enfants, Marseille, France
3. Department of Laboratory Medicine, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, Pays-bas
4. Department of Human Genetics, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, Pays-bas
5. Department of Pathology, University of Washington, Seattle, USA
6. Institut de Myologie, UM76-UPMC Univ. Paris 6/U974-Inserm/UMR7215-CNRS, G.H. Pitié-Salpêtrière, Paris, France
7. Département de génétique-Institut de Recherche Necker Enfants Malades, Hopital Necker - Enfants Malades, Paris, France
8. Inserm UMRS_910/Département de Génétique Médicale, Aix-Marseille Université/Hôpital de la Timone Enfants, Marseille, France

Les mutations localisées dans le gène LMNA (LMNA, Chr. 1q22 ; 12 exons) sont responsables de plusieurs pathologies regroupées sous le terme de laminopathies. Parmi les organes touchés on distingue le muscle striée, le nerf périphérique ainsi que les tissus cutané, adipeux et osseux. Selon les pathologies, les tissus sont affectés de manière isolée ou combinée, comme c'est le cas dans le syndrome de vieillissement prématuré « Progéria de Hutchinson Gilford » (HGPS).
Cette pathologie, majoritairement due à une mutation de novo hétérozygote dans l'exon 11 du gène LMNA (c.1824 C>T ; p.Gly608Gly), conduit à l'utilisation d'un site d'épissage cryptique situé 4 nucléotides en amont de la mutation. Le transcrit produit par cet épissage est délété des 150 derniers nucléotides de l'exon 11 et conduit à la production d'une protéine tronquée appelée Progérine, isoforme mutée de la Lamine A. Contrairement à la Lamine A, la progérine ne peut pas être maturée correctement et exerce de multiples effets toxiques dans les noyaux cellulaires. D'autres mutations dans le même gène ont été rapportées comme pouvant conduire à la production de Progérine ou d'autres isoformes délétères. Nous avons voulu caractériser les éventuels transcrits aberrants sur les cellules de 9 patients atteints de syndromes progéroïdes, dont 8 porteurs de mutations localisées dans l'exon ou l'intron 11 (c.1824C>T (pG608G), c.1868C>G (p.T623S), c.1968G>A (p.Q656Q), c.1968+1G>A, c.1968+5G>A,) et 1 de mutations hétérozygotes composites dans les exons 9 (c.1583C>T ; p.T528M) et 10 (c.1619T>C ; p.M540T). Par RT-PCR semi-quantitative, chez tous les patients porteurs de mutations localisées dans l'exon ou l'intron 11, à l'exception de la mutation p.T623S, nous avons pu mettre en évidence et confirmer par séquençage à la fois un transcrit correspondant à la progérine et un transcrit délété de la totalité de l'exon 11, que nous appelons « dermopatine ». Enfin, nous avons réalisé des études par PCR quantitative afin d'étudier les taux d'expression des différentes isoformes et leur corrélation avec les phénotypes cliniques.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P095 - LES NOUVEAUX CRITERES DE GHENT: QU'ONT-ILS CHANGES DANS L'EVALUATION DU DIAGNOSTIC DE SYNDROME DE MARFAN?

L Faivre (1), G Collod-Beroud (2), L Ades (3), E Arbustini (4), M Arslan-Kirchner (5), J Backer (6), C Beroud (7), C Binquet (8), C Bonithon-Kopp (8), B Callewaert (6), A Child (9), P Coucke (6), D Detaint (10), U Francke (11), E Gautier (8), B Loeys (12), K Mayer (13), H Plauchu (14), PN Robinson (15), C Stheneur (16), A De Paepe (6), C Boileau (17), G Jondeau (10)

1. Génétique, CHU Dijon, Dijon, France
2. U827, INSERM, Montpellier, France
3. Marfan Research Group, Children's Hospital at Westmead, Sidney, Australie
4. Centre for Heritable Cardiovascular Diseases, IRCCS Foundation Policlinico San Matteo, Pavia, Italie
5. Genetics, Institut für Humangenetik, Hannover, Allemagne
6. Genetics, Ghent University Hospital, Ghent, Belgique
7. Biologie moléculaire, CHU Montpellier, Montpellier, France
8. CIC-EC, CHU Dijon, Dijon, France
9. Department of Cardiological Sciences, St George's hospital, London, Royaume-Uni
10. Centre de Référence Syndrome de Marfan et apparentés, Hôpital Bichat, Paris, France
11. Genetics, Stanford University Medical Center, Stanford, USA
12. Medical Genetics, Ghent University Hospital, Ghent, Belgique
13. Human Genetics, Laboratory Medicine, Martinsried, Allemagne
14. Génétique, CHU Lyon, Lyon, France
15. Genetics, Universitätsmedizin Charité, Berlin, Allemagne
16. Pédiatrie, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France
17. Biologie moléculaire, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France

Le diagnostic de syndrome de Marfan (MFS) peut être difficile, et repose donc sur des critères internationaux. De nouveaux critères diagnostiques ont été définis en 2010, dans le but de bonner plus d'importance à la présence d'une dilatation de l'aorte ascendante et à l'ectopie du cristallin, les 2 signes principaux. Le but de cette étude est de comparer la nosologie de 1996 et celle de 2010 pour le diagnostic de syndrome de Marfan, à partir d'une série bien connue de 1009 probants porteurs d'une mutation FBN1. 83% des patients ont pu être classés comme MFS suivant la nouvelle nosologie, comparativement à 89% selon l'ancienne nosologie. DE nouvelles catégories diagnostiques ont été introduites dans la nouvelle nosologie, les 17% de patients ayant des critères insuffisants pour retenir le diagnostic de syndrome de Marfan ont pu rentrer dans l'une des catégories suivantes : ectopia lentis syndrome (ELS), Myopia - mitral valve prolapse - Aortic root dilation - Skeletal findings - Striae syndrome (MASS), Mitral Valve Prolapse Syndrome (MVPS); ou syndrome de Marfan potentiel chez les patients de moins de 20 ans. Pour l'ensemble de ces catégories, le diagnostic pourrait évoluer vers un syndrome de Marfan si de nouveaux signes apparaissaient avec l'âge.

Bien que le pourcentage total de patients avec le diagnostic de syndrome de Marfa soit peu différent entre les 2 classifications, un diagnostic différent existe dans 15% des cas: 10% des patients avec un ancien diagnostic de syndrome de Marfan sont maintenant considérés comme ELS ou MASS en l'absence de dilatation aortique; à l'inverse, 5% des patients ont été reclassés comme MFS selon le nouvelle nosologie en présence de dilatation aortique dans son histoire personnelle ou familiale. Néanmoins, quel que soit le phénotype, une surveillance aortique est requise pour tous les patients.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P096 - ACIDEMIE ISOVALERIQUE : CARACTERISATION GENETIQUE ET ETUDE DU METABOLISME DE LA LEUCINE DANS LES FIBROBLASTES.

O Cortesi (1), N Guffon (2), JB Arnoux (3), C Gay (4), D Roland (5), G Touati (3), C Vianey-Saban (1), C Acquaviva (1)

1. Maladies Héréditaires du Métabolisme et Dépistage Néonatal, Centre de Biologie Est - Groupement Hospitalier Est, Lyon, France
2. Centre de Référence Maladies Héréditaires du Métabolisme, Hôpital Femme Mère Enfant, Lyon, France
3. Centre de Référence Maladies Héréditaires du Métabolisme, Hôpital Necker, Paris, France
4. Pédiatrie, CHU Saint Etienne, Saint Etienne, France
5. Institut de Pathologie et de Génétique, Hôpital de Charleroi, Charleroi, Belgique

L'acidémie isovalérique (IVA) est une acidurie organique dont la prévalence est de 1 à 1,5/100 000. Le spectre clinique de l'IVA est celui classiquement décrit dans les acidémies organiques par intoxication associant des formes aigues à révélation néonatale et des formes chroniques progressives.

Des anomalies moléculaires du gène IVD, localisé sur le chromosome 15 (15q14-15), sont responsables de la symptomatologie. Il code pour l'isovaléryl-CoA déshydrogénase, enzyme clé du catabolisme de la leucine, appartenant à la famille des acyl-CoA déshydrogénases. Le traitement repose sur l'instauration d'un régime hypoprotidique associé à l'administration de glycine et de carnitine favorisant l'élimination de l'acide isovalérique.

Le diagnostic biologique d'orientation repose sur la chromatographie des acides organiques urinaires et/ou le profil des acylcarnitines plasmatiques. L'objectif du travail a été de développer une stratégie diagnostique de confirmation par séquençage des 12 exons du gène IVD et étude du métabolisme de la leucine dans les fibroblastes par incorporation de leucine marquée.

Le génotype de 19 patients a été caractérisé et 9 altérations de séquence non publiées ont été mises en évidence : c.215A>G, c.234+5G>A, c.235-3C>G, c.815G>T, c.865G>A, c.1010G>A, c.1132T>C, c.1175G>A, c.1229_1256del. Parmi elles, l'altération c.1132T>C a été observée avec une fréquence allélique de 13%. L'étude du métabolisme de la leucine dans les fibroblastes, réalisé pour 12 de ces patients, a permis de confirmer l'existence d'un phénotype modéré associé à la mutation c.932C>T, décrite dans la littérature et essentiellement retrouvée chez les patients diagnostiqués à l'issu du dépistage néonatal systématique de l'IVA.

Outre la confirmation diagnostique, ces outils permettent d'une part de proposer un conseil génétique aux familles et d'autre part, d'évaluer la sévérité de la maladie pouvant permettre une prise en charge moins contraignante des patients présentant un phénotype modéré.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P097 - SPECTRE DE MUTATIONS DANS UNE COHORTE UNIQUE DE PATIENTS AVEC SYNDROME DE GITELMAN

A Blanchard (1), K Dahan (2), O Devuyst (2), B Grisart (3), P Houillier (4), X Jeunemaitre (5), D Kahila (5), R Vargas-Poussou (5), A Venisse (5)

1. Centre d'Investigations Cliniques, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
2. Centre de Génétique Humaine, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique
3. Centre de Génétique, Institut de Pathologie et Génétique, Gosselies, Belgique
4. Physiologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
5. Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

Le Syndrome de Gitelman (SG) est une tubulopathie à transmission autosomique récessive, caractérise par une fuite sodée et une hypokaliémie rénale secondaire à l'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone. Dans la grand majorité des cas, il est du à des mutations du gène SLC12A3 codant pour le cotransporteur NaCl sensible aux thiazides. Dans quelques cas, des mutations dans le canal Chlore CLCNKB ont été détectées. Après séquençage du gène SLC12A3, un seul allèle muté est détecté chez 18 à 40% de cas selon les séries, suggérant la présence de grands réarrangements ou des mutations introniques. Ce travail décrit l'analyse moléculaire d'une grande cohorte de 600 patients (289 hommes et 311 femmes) avec SG. Après séquençage direct du gène SLC12A3, 200 mutations ponctuelles différentes ont été détectées (126 faux-sens, 29 microinsertions ou microdélétions entraînant un décalage du cadre de lecture, 28 mutations d'épissage, 13 non-sens et 4 microinsertions ou microdélétions en phase) dont 124 non décrites précédemment. Deux allèles mutés ont été détectés chez 417 patients (69.5%); un allèle muté chez 95 (15.8%) et aucune mutation chez 88 patients (14.6%). L'analyse du gène CLCNKB dans ce dernier groupe a permis la détection de mutations chez 20 patients (3.3%). L'analyse moléculaire a été complétée par la recherche de réarrangements de grande taille du gène SLC12A3 à l'aide du kit MLPA (Salsa kit P136, MRC Holland) chez un sous-groupe de 141 patients. Cette technique a permis la détection de 13 grands réarrangements hétérozygotes différents [10 délétions (E1_E7del, E2_E3del, E4_E6del, E9del, E10_E12del, E14del, E18del, E19_E23del, E24_E25del et E26del) et 3 duplications (E1_E3dup, E1_E4dup et E9_E13dup)] chez 31 patients appartenant au groupe avec un seul allèle muté; 1 délétion hétérozygote (E1_26del) chez un patient avec mutation ponctuelle hémizygote et une délétion à l'état homozygote (E3_E4del). Tous les réarrangements ont été confirmés par QMPSF. La caractérisation des points de cassure de 7 délétions a permis de montrer qu'elles sont favorisées par la présence de séquences répétées et qu'elles sont probablement dues à une recombinaison homologues (n=4), au mécanisme de « non-homologous end-joining » (n=2) et un mécanisme complexe à plusieurs étapes (n=1). L'utilisation d'une puce à ADN (Agilent 244K) a permis de réduire l'intervalle de la délétion E1_E7del à une région de 13 kb. En conclusion, l'analyse moléculaire complète de cette grande cohorte de patients avec SG, a permis d'obtenir un taux de détection de mutations de 89%. Les grands réarrangements correspondent à 7% des mutations détectées et ils sont favorisés par la présence de séquences répétées dans le gène SLC12A3.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P098 - UN CAS DE SYNDROME DE EAST/SESAME AVEC TUBULOPATHIE COMME MANIFESTATION INAUGURALE

D Djeddi (1), X Jeunemaitre (2), D Kahila (2), R Vargas-Poussou (2)
1. Pédiatrie, CHU d'Amiens, Amiens, France
2. Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

Le syndrome EAST (epilepsy, ataxia, sensorineural deafness,tubulopathy) ou SeSAME (Seizures, sensorineural deafness, ataxia, mental retardation, electrolyte imbalance) est une maladie autosomique récessive rare (7 familles décrites à cette date), due à des mutations du gène KCNJ10 codant pour le canal potassique kir 4.1. Dans les cas décrits, les manifestations neurologiques sont au premier plan; en particulier, des convulsions généralisées dans les premiers mois de vie. Le suivi permet de mettre en évidence une tubulopathie avec des caractéristiques semblables à celles du syndrome de Gitelman (fuite sodée, hypomagnésémie, hypocalciurie, hypokaliémie secondaire à l'hyperaldostéronisme). Ce travail décrit la caractérisation clinique et génétique d'une petite fille avec ce syndrome, chez laquelle les premières manifestations ont été liées à la tubulopathie. Il s'agit du premier enfant d'une famille consanguine, elle est née à terme après une grossesse sans complications. A l'âge de 6 mois, elle est hospitalisée pour exploration d'un retard de croissance; le bilan biologique met en évidence une hypokaliémie profonde (2.2 mmol/L). Elle a été traitée par nutrition entérale et une supplémentation orale en potassium. Un mois plus tard, lors d'une nouvelle hospitalisation, les données cliniques et biologiques sont les suivantes: poids 4.6 kg, taille 60 cm, pression artérielle: 99/49 mmHg, hypotonie axiale et retard psychomoteur: pH sanguin 7.52, ionogramme (mmol/L): Na 140, K 3.1, HCO3 26, Cl 98, Ca 2.65 and Mg 0.97. Electrolytes urinaires (mmol/L): Na 59, K 82, and Cl 102. Calcium/creatinine 0.03 mmol/mmol. Rénine et aldostérone plasmatiques: 480 and 284 pg/mL. L'échographie rénale était normale. Le diagnostic de syndrome de Bartter/Gitelman a été évoqué; l'amplification de marqueurs microsatellites aux locus des gènes SLC12A3 et CLCNKB a montré une homozygotie au locus CLCNKB, néanmoins l'analyse de ce gène par séquençage et MLPA n'a pas montré d'altération moléculaire. Une évaluation neurologique à l'âge de 9 mois a montré un nystagmus rotatoire et une ataxie cérébelleuse discrète. Le scanner cérébral et les potentiels évoqués visuels étaient normaux; une absence bilatérale d'otoémissions acoustiques est également mise en évidence. A l'âge de 1 an, elle a présenté un épisode de convulsions tonico-cloniques généralisés, avec récurrence 2 semaines plus tard. Les potentiels évoqués auditifs ont montré une atteinte mixte périphérique et centrale. Le séquençage du gène KCNJ10 a permis la détection d'une mutation faux-sens (p.Arg175Gln), déjà décrite dans la littérature, pour laquelle l'expression in vitro a montré une perte de fonction du canal kir 4.1 (Reichold M et al. PNAS 2010). En conclusion, le syndrome EAST/SeSAME peut avoir comme manifestation inaugurale une tubulopathie, qui peut mettre sur la piste de la pathologie neurologique.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P099 - MOSAÏCISME SOMATIQUE CHEZ UNE FEMME PORTEUSE D'UNE GRANDE DELETION DU GENE ATP7A

MP Moizard (1), N Ronce (1), M Holder-Espinasse (2), A Riquet (3), N Marmin (1), S Vonwill (1), M Raynaud (1)
1. Service de Génétique, Hôpital Bretonneau, CHRU, Tours, France
2. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU, Lille, France
3. Service de Neuropédiatrie, Hôpital R Salengro, CHRU, Lille, France

La maladie de Menkes est une pathologie rare, de transmission récessive liée à l'X qui est liée à un défaut du transport intracellulaire du cuivre. Le déficit en cuivre libre qui en résulte conduit principalement à des symptômes neurodégénératifs qui apparaissent dès les premiers mois de vie. Le pronostic est sombre. L'aspect particulier des cheveux est évocateur. Le diagnostic est confirmé par une étude moléculaire du gène ATP7A qui code pour une protéine transmembranaire de transport du cuivre de 1500 acides aminés.

Les anomalies géniques identifiées sont principalement des mutations ponctuelles décelées par un séquençage complet des 23 exons du gène et des bornes exons/introns. Les grands réarrangements, délétions ou duplications pouvant toucher un ou plusieurs exons, représentent le tiers des mutations causales. La mise en place de la technique MLPA (Multiplex Ligation-dependant Probe Amplification, kit P104, MRC-Holland, Amsterdam) qui quantifie chacun des exons du gène a permis la recherche de ces réarrangements de façon simple et adaptée au diagnostic moléculaire au laboratoire. Elle permet notamment d'offrir un conseil génétique rapide aux apparentées de patients porteurs d'un réarrangement génique.

Nous rapportons ici le cas d'une femme porteuse d'une délétion de grande taille emportant la totalité des exons du gène ATP7A excepté l'exon 1. Le statut d'hétérozygote de la patiente a été décelé dans un premier temps par méthode MLPA. Cependant, il a été constaté une diminution moins importante de l'aire des pics obtenus pour chacun des exons délétés que celle habituellement observée chez une femme conductrice. Une délétion en mosaïque a alors été suspectée.

L'utilisation de techniques de PCR quantitative a permis de valider l'hypothèse d'un mosaïcisme somatique pour cette délétion dans les lymphocytes de la patiente. Cette hypothèse a été confirmée par ailleurs par l'étude d'un STR polymorphe de l'intron 5 révélant par PCR la présence de deux allèles distincts.

L'existence d'une mosaïque somatique peut facilement être méconnue et aboutir à un diagnostic erroné. L'utilisation de plusieurs techniques complémentaires s'avère ainsi nécessaire pour la validation de certains résultats obtenus par MLPA.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P100 - IDENTIFICATION D'UNE DUPLICATION DANS LE GENE GLYPICAN-3 (GPC3) CHEZ UN PATIENT PORTEUR D'UN SYNDROME DE SIMPSON-GOLABI-BEHMEL.

E Cottereau (1), MP Moizard (1), A David (2), N Marmin (1), A Toutain (1), M Raynaud (1)
1. Service de Génétique, Hôpital Bretonneau, CHRU, Tours, France
2. Service de Génétique Médicale, Hôtel Dieu, CHU, Nantes, France

Le syndrome de Simpson-Golabi-Behmel (SSGB) est un syndrome rare lié à l'X, décrit pour la première fois en 1975 par Simpson et al. puis par Golabi et Rosen en 1984. Il est caractérisé par une avance de croissance pré- et postnatale, une morphologie craniofaciale reconnaissable avec une macrocéphalie, des malformations congénitales variées, une viscéromégalie avec un risque accru de tumeurs et un déficit intellectuel (DI) léger/modéré dans certains cas. En 1996, des mutations causales ont été identifiées dans le gène GPC3 qui est le gène majeur du SSGB localisé en Xq26. Récemment une duplication des 9 exons de GPC4, gène contigu à GPC3 en son extrémité 3', a été identifiée dans la famille décrite par Golabi et Rosen, suggérant que GPC4 pourrait être le second gène du SSGB.

Le taux de détection des mutations dans GPC3 selon les publications varie de 37% à 70%. Les mutations décrites sont des grandes délétions du gène dans 60% des cas, et des mutations ponctuelles faux-sens, non-sens ou de décalage de phase dans 40 % des cas. A ce jour aucune duplication de GPC3 n'a été rapportée. Nous avons donc récemment mis au point la recherche simultanée de duplication de GPC3 et GPC4 dans une série de patients adressés pour étude moléculaire avec un diagnostic de SSGB et sans mutation identifiée dans GPC3. Nous avons utilisé la technique MLPA (Multiplex Ligation-dependant Probe Amplification, kit P154, MRC-Holland, Amsterdam). Aucun réarrangement du gène GPC4 n'a été décelé. En revanche, une duplication de l'exon 2 de GPC3 a été identifiée. L'analyse du transcrit dans les lymphocytes du patient a montré qu'il s'agit d'une duplication qui conserve la phase de lecture et conduit à la copie en tandem des acides aminés p.Gly59 à p.Gln112 de la protéine. Cette insertion de 54 résidus supplémentaires incluant 3 cystéines impliquées dans la stabilité tridimensionnelle de la protéine suggère une modification probable de sa conformation altérant ainsi sa fonction. Cette duplication a été identifiée chez un patient sans antécédent familial particulier, examiné à l'âge de 20 ans à l'occasion de l'exploration d'une grande taille (214 cm). Le diagnostic de SSGB avait été évoqué sur la notion d'une macrosomie néonatale suivie d'une avance staturale, une hernie diaphragmatique opérée, une cryptorchidie bilatérale, un pectus excavatum, des mamelons surnuméraires et des signes dysmorphiques évocateurs (macrognathie, sillon médian de la lèvre inférieure). Ce patient avait eu un développement psychomoteur normal et une scolarité sans problème.

Cette première duplication détectée dans le gène GPC3 élargit le spectre des mutations déjà décrites et justifie d'inclure la recherche de ce type mutationnel dans la stratégie diagnostique du syndrome SSGB.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P101 - UN NOUVEAU SOUS TYPE DE CDG I AFFECTANT LA SYNTHESE DU DOLICHOL : DHDDS-CDG

S Vuillaumier-Barrot (1), C Bouchet-Seraphin (1), A Brignoli (1), I Chantret (2), N Dorison (3), T DUPRE (1), M Fasseu (2), D Heron (4), C Le Bizec (1), C Mignot (4), SEH Moore (2), N SETA (1), V Valayannopoulos (5)

1. Biochimie, GH Bichat-Claude Bernard, Paris, France
2. INSERM U773, CRB3, Paris, France
3. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris, France
4. Département de Génétique, GH Pitié Salpêtrière, Paris, France
5. Unité fonctionnelle Métabolisme, Hôpital Necker Enfants Malades, PARIS, France

Introduction :Les CDG I sont des maladies héréditaires affectant les étapes précoces de la synthèse de la partie glycanique des N-glycoprotéines. Cette synthèse complexe nécessite l'intervention d'une quarantaine de protéines : le déficit d'activité d'une de ces protéines définit un sous-type de CDG I. Trois grands groupes de CDG I peuvent être identifiés, défaut de synthèse du dolichol-phosphate (Dol-P), défaut de production de l'oligosaccharide, défaut de transfert de l'oligosaccharide sur la chaine peptidique.

Cas clinique : Nous décrivons ici un patient atteint par un nouveau sous-type de CDG I, lié à un déficit en cis-prenyl transférase (CPT ou DHDDS, OMIM #608172), l'enzyme assurant les premières étapes de synthèse du Dol-P. Le patient, décédé à l'âge de 6 mois, présentait un phénotype sévère avec des atteintes neurologiques centrales accompagnées d'atteintes hépatiques, cardiaques, rénales, oculaires et cutanées.

Résultats : Des mutations sur le gène DHDDS, d'origine paternelle et maternelle, ont été identifiées, respectivement c.192G>A (p.Trp64X), mutation faux-sens, et c.441-24A>G. Cette dernière mutation crée un site d'épissage alternatif (score 0,99 au lieu de 0,65 pour l'exon 6 normal) confirmée par l'étude de l'ARN. Au final il y a : i) perte de l'exon 6, ii) insertion de 63 bases dans l'intron 5, iii) apparition d'un codon stop (c.440-543 del 102 ins63 (p.Cys148Glu fsX11). La mesure d'activité enzymatique CPT dans les fibroblastes et la PCR quantitative de l'ARNm de la CPT confirme un niveau très bas de transcription.

Conclusion : Les données biochimiques et moléculaires ainsi que le tableau clinique, grave comme dans les autres défauts de la synthèse du Dol-P décrits à ce jour, permettent d'identifier un nouveau sous-type de CDG I chez ce patient, DHDDS-CDG.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P102 - IDENTIFICATION DE NOUVEAUX GENES DANS LES FORMES AUTOSOMALES RECESSIVES DE LA MALADIE DE PARKINSON PAR CARTOGRAPHIE D'HOMOZYGOTIE SUR DES FAMILLES CONSANGUINES

A Honoré (1), N Rozas (1), C Condroyer (1), E Lohmann (1), M Tazir (2), AL Leutenegger (3), S Lesage (1), A Dürr (4), A Brice (4)

1. INSERM-UMR_S975/UPMC, CRicm, Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Service de Neurologie, CHU Mustapha Bacha, Alger, Algérie
3. INSERM, U946, CEPH, Paris, France
4. INSERM-UMR_S975/UPMC/Département de Génétique et Cytogénétique, CRicm, Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Introduction - La maladie de Parkinson (MP) est une maladie neurodégénérative fréquente avec une prévalence d'environ 2% chez les personnes âgées de plus de 65 ans. Elle se manifeste par une akinésie, une rigidité et un tremblement de repos avec une bonne réponse à la L-Dopa, dûe à la perte de neurones dopaminergiques de la substance noire. A ce jour, au moins 15 loci ont été décrits (8 gènes validés) expliquant 50% des formes autosomiques récessives à début précoces (<40 ans) (Parkine, PINK1, DJ-1 et ATP13A2) et 10% des formes autosomiques dominantes (SNCA, LRRK2, VPS35 et EIF4G1). D'autres gènes restent à identifier.

But du travail - Identifier de nouveaux gènes récessifs dans la MP grâce à des familles consanguines en combinant 2 approches moléculaires : cartographie d'homozygotie et séquençage à haut débit de l'exome (NGS).

Matériel et méthodes

1) Analyse de liaison génétique et recherche de Copy Number Variation (CNV)

Patients

- ✓ 59 atteints (M/F=32/27), 13 non atteints issus de 48 familles ou cas isolés consanguins
- ✓ AO : 45 ans [16-78] (au moins 1 membre de la famille <55 ans)
- ✓ exclus pour la Parkine, PINK1 et DJ-1
- ✓ origine : Afrique du Nord (n=14), Europe (n=16), Turquie (n=15) et autres (n=3)

Méthodes

- ✓ génotypage sur puce HumanCytoSNP-12 (Illumina)
  recherche de régions homozygotes partagées par les patients (programme Homozygosity Detector) et de CNV (programme CNV partition)
- ✓ analyse de liaison génétique (FEstim, HLOD)

2) NGS

Patients

- ✓ 8 cas index consanguins (M/F=5/3)
- ✓ AO : 37,5 ans [16-65]
- ✓ origine : Afrique du Nord (n=2), Europe (n=5) et Libye (n=1)
- ✓ partageant une ou plusieurs régions homozygotes détectées par alignement ou de liaisons génétiques

Méthodes

- ✓ séquençage des exomes par IntegraGen(kit SureSelect 38Mb, Agilent ; HiSeq2000, Illumina)
- ✓ comparer les données aux différentes ressources publiques
- ✓ rechercher des mutations rares à l'état homozygote

Résultats - L'alignement et les données de liaison génétique ont permis de mettre en évidence 3 régions d'intérêt (1p22.2-21-3, 12q24.11 et 17p13.3-13). Aucun CNV n'a été trouvé dans cette régions (et aucune mutation pour 4 gènes candidats dans la région 17p13.3-13). Les premières analyses du NGS ont permis d'identifier une mutation à l'état homozygote dans l'exon 26 du gène ATP13A2 (p.G1019A*fs*X4) chez un patient d'origine portugaise (AO : 16 ans) avec des signes atypiques de la MP (cette délétion a été retrouvée chez son frère atteint et absente chez 250 européens). Les analyses du NGS des 7 autres patients consanguins sont en cours.

Conclusion - La cartographie par homozygotie chez des familles consanguines représente une stratégie puissante pour identifier de nouveaux gènes récessifs de la MP.

Le séquençage à haut débit des exomes, combinée aux données de liaison génétique, nous a permis d'identifier 1 patient avec un âge de début juvénile et ayant une MP atypique, avec une mutation dans le gène ATP13A2.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P103 - ANALYSE MOLECULAIRE DE 2 NOUVEAUX GENES VPS35 ET EIF4G1 DANS DES FAMILLES EUROPEENNES DE FORME AUTOSOMIQUE DOMINANTE ATTEINTES DE LA MALADIE DE PARKINSON

C Condroyer (1), S Klebe (1), A Honoré (1), S Lesage (1), A Dürr (2), A Brice (2)
1. INSERM UMR_S975/UPMC/CNRS UMR_7225, CRicm-Hôpital Pitié-Salpétrière, Paris, France
2. INSERM UMR_S975/UPMC/CNRS UMR_7225/Département de Génétique et Cytogénétique, CRicm-Hôpital Pitié-Salpétrière, Paris, France

INTRODUCTION

La maladie de Parkinson (MP) est une maladie neurodégénérative progressive, caractérisée par la bradykinésie, la rigidité et le tremblement de repos, dus à la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la voie nigro-striale. 18 loci sont déjà connus dans MP et 6 gènes ont été identifiés et associés soit à des formes autosomiques récessives (AR) : Parkin (Park2), Pink1 (Park6), DJ-1 (Park7), ATP13A2 (Park 9), soit à des formes autosomiques dominantes (AD) : SNCA (Park1), LRRK2 (Park8). Récemment, 2 gènes ont été identifiés VPS35 (vesicular Protein Sorting 35) (Zimprich et al, 2011 ; Vilariño-Güell et al, 2011) et eIF4G1 (eukaryotic translation initiation factor 4-gamma 1) (Chartier-Harlin et al, 2011), comme étant associés à des formes AD de la MP.

BUT DU TRAVAIL

Le but de notre travail est d'établir le spectre mutationnel de ces 2 gènes dans les formes familiales AD de la MP d'origine européenne.

POPULATIONS ET METHODES

1) Patients et contrôles:

• 246 cas index européens atteints de MP (dont 90% français) ont été étudiés :
- 137M/109F
- âge de début de la maladie 50.6±11.9 ans (14-86),
- âge à l'examen 58.4±11.8 ans (24-87),

• 250 contrôles sains européens :
- 140M/110F,
- âge à l'examen 57,8±11.8 ans (31-85)

2) Méthodes :

Séquençage des 17 exons du gène VPS35 (NM_018206.4) et des 33 exons du gène eIF4G1 (NM_198241.2) ainsi que leurs jonctions intron-exon sur séquenceur automatique (ABI 3730, Applied Biosystems),

Analyse des données avec le logiciel SeqScape version 2.6 et comparaison avec les séquences consensus correspondantes.

RESULTATS

1) Pour le gène VPS35, nous n'avons identifié qu'un seul variant p.D620N à l'état hétérozygote, rapporté comme le plus fréquent, dans 3 familles (fréquence : 0,012), absent chez 250 contrôles et qui coségrège avec la maladie dans une des 3 familles. Les 5 porteurs de cette mutation (âge de début: 38, 48, 48, 59, 63) présentent une MP idiopathique . Aucun autre variant n'a été retrouvé dan la population étudiée.

2) Parmi les 6 variants codants de eIF4G1, retrouvés à l'état hétérozygote chez les patients mais absents chez les contrôles, 4 n'ont jamais été rapportés dans la littérature (2 faux-sens : p.A433V, p.A717P, 1 insertion : p.E465dup et 1 délétion : p.E465del) mais l'absence de coségrégation ne permet pas de déterminer leur caractère pathogénique. Seul le variant

p.G686C, rapporté comme mutation, a été retrouvé chez 2 cas index (âge de début : 25 et 58 ans), (fréquence relative

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P104 - MALFORMATION CHIARI TYPE 1 DANS LE SYNDROME DE NOONAN

Y CAPRI (1), M MOZELLE-NIVOIX (2), L PERRIN-SABOURIN (3), C BAUMANN (3), N POUVREAU (4), H CAVE (5), A VERLOES (6)

1. Département de génétique médicale, CHU Robert Debré, Paris, France
2. Réseau de génétique, CHU Reims-CHT Troyes, Reims-Troyes, France
3. Département de génétique, CHU Robert Debré, Paris, France
4. Département de génétique moléculaire, CHU Robert Debré, Paris, France
5. Département de génétique moléculaire, INSERM U676, CHU Robert Debré, Paris, France
6. Département de génétique médicale, INSERM U676, CHU Robert Debré, Paris, France

Le syndrome de Noonan est une pathologie autosomique dominante très bien identifiée cliniquement et génétiquement hétérogène. Il constitue l'un des syndromes génétiques les plus fréquents avec une incidence de 1/1000 à 2500 naissances. Les signes cliniques caractérisant ce syndrome sont : une dysmorphie faciale, un retard staturo-pondérale et une cardiopathie.

Nous rapportons le cas d'une famille où 2 enfants présentant un syndrome de Noonan ont développé une malformation de Chiari de type 1. Les enfants ont hérité de leur mère la mutation classique c.922A>G (N308D) du gène PTPN11. Les trois patients de cette famille présentent une forme clinique typique du syndrome. La malformation de Chiari a été découverte dans l'enfance et a nécessité une intervention neurochirurgicale dans les 2 cas.

La malformation de Chiari de type 1 est la plus fréquente des anomalies de la jonction crânio-cervicale. Elle correspond à une position trop basse des amygdales cérébelleuses sous le foramen magnum et s'associe fréquemment à une syringomyélie. Bien que cette malformation soit congénitale, les symptômes qui en découlent peuvent n'apparaitre qu'à l'âge adulte. Les manifestations les plus fréquentes sont les céphalées, les douleurs du cou et des épaules et les vertiges déclenchés par certains mouvements de la tête.

Plusieurs cas de malformation de Chiari ont déjà été rapportés en association avec le spectre des RASopathies (Noonan, Costello, lentiginose multiple). La description de ce 1er cas familial de malformation de Chiari de type 1 au sein d'une famille porteuse d'un syndrome de Noonan renforce l'idée qu'il ne s'agit pas d'une association fortuite mais d'un signe de la maladie. La fréquence de ce signe clinique est probablement sous estimé car les symptômes sont peu spécifiques et assez tardifs par rapport à l'établissement du diagnostic, souvent porté dans l'enfance. La réalisation d'une IRM cérébrale systématique chez les patients porteurs d'un syndrome de Noonan est à discuter afin d'établir une incidence plus précise de ce signe de la maladie.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P105 - RECHERCHE DE GENES RESPONSABLES DE NOUVELLES FORMES D'ATAXIES CONGENITALES NON PROGRESSIVES PAR SEQUENÇAGE D'EXOME DANS DES FAMILLES CONSANGUINES

M ASSOUM (1), V Delague (2), A Mégarbané (3)

1. UMR_S910, Faculté de Médecine de la timone, marseille, France
2. Aix-Marseille Univ, UMR 910, "Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle", Faculté de Médecine de la Timone, 13385, Marseille, France, Faculté de Médecine de la timone, marseille, Liban
3. Unité de Génétique Médicale, Laboratoire International Associé Inserm, Faculté de Médecine, Université Saint-Joseph, Beirut, Liban, Institut Jérome Lejeune, Paris, France, Beyrouth, Liban

Les ataxies congénitales non progressives (NPCA) sont des maladies rares représentant 10% des encéphalopathies infantiles non progressives. Cliniquement, les NPCA sont caractérisées dans l'enfance par des anomalies du développement moteur, une hypotonie suivis par l'apparition de l'ataxie. Dysarthrie, spasticité et déficience intellectuelle sont souvent présents. La plupart des ataxies congénitales sont caractérisées par une hypoplasie ou atrophie de certaines parties du cervelet et du tronc cérébral. A l'heure actuelle, 17 loci responsables de NPCA sont connus dont 14 sont à transmission autosomique récessive. Dans notre laboratoire, nous avons décrit et localisé deux formes d'ataxie non progressive avec déficience intellectuelle: une première forme d'ataxie dite de type Norman (SCAR2) au niveau du chromosome 9q34-9qter et le syndrome CAMOS (cerebellar ataxia with mental retardation, optic atrophy and skin abnormalities) (SCAR5) au niveau du chromosome 15q24-q26. Nous explorons également des familles atteintes de formes autosomiques récessives d'ataxies cérébelleuses héréditaires non progressives, pour lesquelles le gène n'a pas encore été identifié.

Dans ce projet, cinq familles présentant des phénotypes différents avec en commun l'ataxie non progressive associée à une déficience intellectuelle ont été analysées par séquençage d'exome afin d'identifier les gènes responsables de ces nouvelles formes d'ataxies non progressives dans ces familles. La stratégie adoptée, dans ces familles consanguines, consiste à analyser l'exome du «trio» : individu atteint et parents hétérozygotes obligatoires. En effet, ceci permet une analyse par homozygotie par descendance des données issues du séquençage de l'exome. L'analyse des résultats d'exomes est en cours. L'analyse des résultats de la famille libanaise liée au locus SCAR2 (9q34.3-9qter) a permis d'identifier la mutation causale. Cette mutation est absente dans une population contrôle. L'analyse des autres familles va permettre de déterminer si elles ont des phénotypes totalement différents avec des mutations dans différents gènes ou si les gènes impliqués appartiennent à une même voie moléculaire. Le développement de modèles cellulaires et de modèles murins permettra d'élucider la fonction du ou des gènes identifiés. L'identification des gènes impliqués dans ces formes rares d'ataxies congénitales non progressives est un atout considérable pour la compréhension de la physiopathologie de ces maladies.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P106 - LES MUTATIONS D'INF2 SONT UNE CAUSE MAJEURE DE PODOCYTOPATHIE AUTOSOMIQUE DOMINANTE

O Boyer (1), G Benoit (2), O Gribouval (3), F Névo (3), MJ Tête (4), MC Gubler (5), S Saunier (5), G Mollet (3), C Antignac (6)

1. Néphrologie Pédiatrique - Inserm U983 - Université Sorbonne Paris Cité, Hôpital Necker - Enfants Malades, Paris, France
2. Néphrologie pédiatrique, CHU Sainte-Justine, Sainte-Justine, Canada
3. Inserm U983, Hôpital Necker - Enfants malades, Paris, France
4. Inserm U983 Hôpital Necker - Enfants Malades, Hôpital Necker - Enfants Malades, Paris, France
5. Inserm U983, Hôpital Necker - Enfants Malades, Paris, France
6. Génétique Médicale - Inserm U983 - Université Sorbonne Paris Cité, Hôpital Necker - Enfants malades, Paris, France

En 2010, des mutations du gène INF2 ont été identifiées dans des familles avec podocytopathie (maladie glomérulaire touchant le podocyte) autosomique dominante (Brown, Nat Genet 10). Le podocyte est une cellule épithéliale hautement différenciée dont les pieds s'enroulent autour des capillaires glomérulaires pour contrôler la filtration glomérulaire. Son architecture est maintenue par un cytosquelette finement régulé. La protéine INF2 appartient à la famille des « diaphanous formins » qui régulent la polymérisation de l'actine. Parmi celles-ci, INF2 a la capacité unique d'activer à la fois la polymérisation et la dépolymérisation de l'actine.

Afin de mieux déterminer la prévalence des mutations d'INF2, nous avons séquencé le gène INF2 dans 54 familles non apparentées (78 patients) avec podocytopathie autosomique dominante, chez qui des mutations des autres gènes impliqués dans cette pathologie, ACTN4 et TRPC6, avaient été exclues. La protéinurie avait été détectée à un âge médian de 20 ans (2-52 ans).

Nous avons identifié 7 mutations faux-sens dans 9 familles (17%), dont 4 nouvelles. Parmi les patients symptomatiques, l'âge médian à la découverte de la protéinurie était de 27 ans (5-44 ans) et à l'insuffisance rénale terminale de 36 ans (20-70 ans). Nous avons observé une pénétrance incomplète et une expressivité variable de la maladie. De ce fait, et du fait de la fréquence des néomutations d'ACTN4 et TRPC6, nous avons recherché des mutations d'INF2 chez 84 cas sporadiques, et identifié une néomutation chez un seul patient.

Tous les variants identifiés dans notre cohorte sont localisés dans les exons 2 et 4 du gène, et induisent des changements d'acides aminés très conservés dans un domaine fonctionnel important d'INF2, le Diaphanous Inhibitory Domain. Ce domaine est composé de 4 motifs armadillo qui lui confèrent une grande versatilité et lui permettent d'interagir avec différents partenaires. Les variants n'ont pas été retrouvés dans 360 chromosomes contrôle ni dans les bases de données de polymorphismes.

Sur le plan fonctionnel, nous avons montré que les formes mutantes d'INF2 conduisent à une désorganisation du cytosquelette d'actine et de microtubules et du réticulum endoplasmique, une augmentation de l'interaction d'INF2 avec la GTPase Cdc42, et une délocalisation d'INF2 et Cdc42 dans le cytoplasme. De plus, nos résultats suggèrent que les mutations perturbent à la fois la polymérisation et la dépolymérisation des filaments d'actine médiées par INF2.

En conclusion, nous avons confirmé que les mutations d'INF2 sont la principale cause de podocytopathie autosomique dominante rendant compte de 12-17% des cas, ce qui est supérieur à la prévalence rapportée des mutations d'ACTN4 (4%) et TRPC6 (5%). Ces résultats permettent de mieux comprendre les mécanismes reliant les formines au fonctionnement des podocytes. Nous testons actuellement l'implication potentielle des mutations d'INF2 dans des podocytopathies avec atteinte extra-rénale.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P107 - MALADIES DE « HUNTINGTON LIKE » NON LIEES A DES MUTATIONS DU GENE HTT.

HUNTINGTON DISEASE LIKE PHENOTYPES NOT LINKED TO CAG REPEAT EXPANSIONS IN THE HTT GENE

LL Mariani (1), C Cazeneuve (1), K Youssov (2), D Seilhan (3), L Freeman (4), S Noël (1), JN Peuvion (1), V Hahn Barma (5), E Roze (4), AC Bachoud Lévi (6), A Dürr (1), P Charles (7)

1. Département de Génétique, cytogénétique et Embryologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France
2. Service de Neurologie, centre de référence Maladie de Huntington, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
3. Service de neuropathologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France
4. Fédération des Maladies du Système Nerveux, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France
5. Institut de la Mémoire et de la Maladie d'Alzheimer-IM2A, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France
6. Service de Neurologie, Centre de référence Maladie de Huntington, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
7. Département de Génétique, cytogénétique et Embryologie, centre de référence Maladie de Huntington, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France

Objectifs : Déterminer les étiologies des maladies de « Huntington like » non liées à des mutations du gène HTT.

Méthodes : Depuis 2005, 228 prélèvements pour suspicion de maladie de Huntington ont été adressés au laboratoire de génétique de l'Hôpital de la Salpêtrière. La maladie a été confirmée chez 87 % des patients (n=198) pour lesquels l'analyse moléculaire a mis en évidence une mutation du gène HTT avec une expansion de CAG > 36.

30 (13%) des patients (16 H/ 14F) pour lesquelles il n'existait pas de mutation du gène HTT ont été explorés dans le cadre du centre de référence pour la maladie de Huntington.

Ces patients ont bénéficié d'un bilan étiologique orienté par l'imagerie réalisée chez 93 % des patients (28/30).

Ce bilan qui a associé, outre l'IRM cérébrale et le bilan neuropsychologique, un bilan immunologique à la recherche d'un Lupus, des recherche d'acanthocytes, de cuivre, de céruléoplasmine, un dosage de vitamine B12, une analyse moléculaires des gènes JPH3, SCA17, DRPLA, FTL, PLA2G6 a permis l'établissement d'un diagnostic chez 7 patients mais certains résultats sont encore en attente.

Résultats : Tous les patients présentaient un phénotype clinique moteur compatible avec une maladie de Huntington. La présence d'un syndrome dysexécutif a été confirmée chez tous les patients qui ont bénéficié d'un bilan neuropsychologiques (23/23). 60% des patients avaient une histoire familiale de troubles psychiatriques ou de mouvements anormaux chez un apparenté au premier degré. Les autres cas étaient isolés ou comportaient une censure dans la famille. L'âge de début des symptômes moteurs était de 51 ans (24-83), le syndrome choréique était généralisé pour 60% des patients. L'IRM était normale chez 2 patients, a montré une atrophie corticale ou sous corticale chez 71% des patients et des anomalies des noyaux gris centraux chez 28%.

Un diagnostic a été établi pour 7 patients : maladie de Huntington liée à une mutation du gène JPH3 (n=3), lupus systémique (n=2), carence en vitamine B12 dans le cadre d'une maladie de Biermer (n=1), délétion du gène HTT (n=1) dont la signification pathologique est en cours d'étude.

L'examen neuropathologique d'un des patients a montré une perte neuronale importante touchant les noyaux gris centraux (pallidum et noyaux sous thalamiques), l'absence d'inclusions ubiquitine positives mais n'a pas permis de poser un diagnostic.

Conclusion : La maladie de Huntington est génétiquement hétérogène, nous proposons une stratégie diagnostique devant un patient présentant un phénotype clinique « Huntington like » non lié à une mutation du gène HTT.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P108 - ETUDES GENETIQUES DES NEUROPATHIES HEREDITAIRES SENSITIVES HUMAINES GRACE AU MODELE CANIN.

GENETIC ANALYSIS OF HUMAN HEREDITARY SENSORY NEUROPATHIES USING THE CANINE MODEL.

J PLASSAIS (1), B HEDAN (1), A POMMIER (1), E GUAGUERE (2), L LAGOUTTE (1), C HITTE (1), M PARADIS (3), C ANDRE (1)

1. CNRS, UMR 6061, Institut de Génétique et Développement de Rennes, Université Rennes 1, UEB, IFR140, Faculté de Médecine, RENNES, France
2. Clinique Vétérinaire Saint Bernard, 598 avenue de Dunkerque, LOMME, France
3. Department of Clinical Sciences, Faculté de Médecine Vétérinaire, University of Montreal, QUEBEC, Canada

Among different human Hereditary Sensory Neuropathies (HSN), several are characterized by insensitivity to pain and are sometimes combined with self-mutilation. So far, less than 10 genes have been identified as responsible for Human HSN, including type-2B form of Charcot-Marie-Tooth disease. Strikingly, several purebred dogs also present similar clinical characteristics. The dog population is structured in more than 350 breeds, highly heterogeneous between them, but strongly homogenous within breeds, each corresponding to a genetic isolate. This particular structure facilitates the identification of the genetic bases of diseases in affected breeds. In dogs, clinical signs consist of acral analgesia, with or without sudden intense licking, biting and severe self-mutilation of the feet whereas proprioception, motor abilities and spinal reflexes remain intact. At necropsy, a reduction of the ganglia weight and a decrease of the number of neurons are observed. Microscopic changes are noticed in peripheral nerves and dorsal spinal roots. The average age of onset is 4 months and dogs severely affected are generally euthanized. Despite its rare occurrence in the whole dog species, several hunting dog breeds are specifically affected with a higher risk, i.e. 3 to 5% of French Spaniels develop an acral mutilation syndrome. The ongoing work consists in a thorough clinical and histological analysis of affected dogs presenting acral mutilation and/or nociceptive loss. To this aim, we collected blood samples from several affected breeds :French spaniels, German short-haired pointers, English pointers and miniature Pinschers, including 35 affected dogs and constructed large pedigrees, showing recessive transmission modes. We then performed a genetic analysis with 20 cases and 26 controls in the French Spaniel breed. A Genome Wide Association Study using the recently available Illumina Canine HD SNP array, consisting of 170000 SNPs, was performed to identify the locus responsible of this disease. The collection of nervous system tissue samples is ongoing for future RNA expression analyses. Results on the clinical characterization and on the genetic case/control study will be presented.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P109 - DECOMPENSATION AIGUE ET DECES INATTENDU CHEZ UNE PATIENTE ATTEINTE DE CDG I G

UNEXPECTED DEATH IN A CHILD WITH A CDG I G SYNDROM

J Fabre-Teste (1), S Renolleau (2), S Isambert (2), N Lopez (3), S Viola (4), S Vuillaumier-Barrot (5), N Seta (5), D Héron (6)

1. Unité Fonctionnelle de Génétique Médicale AP-HP, Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, 13 ème, France
2. Service de Réanimation néonatale et pédiatrique AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, 12ème, France
3. Service de Neuropédiatrie et pathologie du développement AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, 12ème, France
4. Service de Gastro-entérologie pédiatrique AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, 12ème, France
5. Service de Biochimie AP-HP, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, 18ème, France
6. Unité Fonctionnelle de Génétique Médicale AP-HP, Département de Génétique et Cytogénétique, Centre de Référence « Déficiences intellectuelles de causes rares », CRicm, UMR-S975, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, 13 ème, France

Les syndromes CDGs correspondent à un groupe de pathologies autosomiques récessives liés à un déficit de glycosylation des protéines, aux manifestations cliniques variables. Le type le plus fréquent est le PMM2-CDG (CDG Ia). Nous présentons l'observation et l'évolution fatale de la première patiente présentant un ALG12-CDG (CDG Ig), décrit en 2002.

Patiente

3ème enfant d'un couple apparenté. La grossesse est marquée par un retard de croissance intra-utérin et un hydramnios. En période néonatale, une hypotonie majeure, des difficultés alimentaires sévères et une dysmorphie faciale, amènent à la prescription d'un bilan étiologique large et à l'identification d'un nouveau type de CDG, dû à un déficit en dolichyl-P-mannose: Man7GlcNAc2-PP dolichyla1,6mannosyltransférase codée par le gène hALG12.

L'évolution est marquée par un retard de développement sévère, une microcéphalie post-natale, un retard statural, des infections à répétition et des troubles alimentaires justifiant une gastrostomie à 18 mois. Le bilan biologique ne met en évidence qu'une diminution des IgG (1.88 g/l N >3g/l) à 8 mois.

A l'âge de 8 ans et demi, elle marche avec appui et ne dit que quelques mots. Elle est nourrie par nutrition entérale. A l'examen clinique, elle pèse 20 kg (- 2 DS), mesure 109 cm (- 4 DS) et a un PC à 47 cm (-3 DS). Il existe une anomalie de répartition des graisses de type gynoïde, des particularités morphologiques faciales et des extrémités, et une scoliose. L'examen neurologique est normal en dehors d'une hypotonie.

A 12 ans, elle est hospitalisée en urgence pour une pneumopathie et une diarrhée. En quelques jours apparaît un œdème aigu du poumon et des œdèmes généralisés dans le cadre d'une hypoalbuminémie (17 g/l, N>35g/l) sévère et réfractaire amenant au diagnostic d'entéropathie exsudative. Malgré une antibiothérapie large, la patiente décède des suites d'un syndrome de détresse respiratoire aigu et d'une défaillance multi viscérale.

Discussion

7 autres cas de ALG12-CDG seulement ont été rapportés depuis 2002. Tous présentent un retard psychomoteur sévère, une dysmorphie faciale et un hypogénitalisme chez les garçons. On retrouve des infections associées à un taux d'IgG bas chez 5 des patients. Deux patients, issus d'une même fratrie, sont décédés. Ils présentaient un tableau plus sévère associant en plus, une dysplasie osseuse, une surdité, une rétinopathie, une cardiomyopathie sévère et des œdèmes généralisés liés à une hypoalbuminémie sévère pour l'un d'eux. Notre patiente est la première décrite avec une atteinte digestive de type entéropathie exsudative.

Conclusion :

Cette observation enrichit le spectre clinique du ALG12-CDG, forme très sévère associée à une atteinte multi-systémique, et incite (i) à mieux documenter le bilan biologique, en particulier

immunitaire et protéique, et (ii) à mettre en œuvre une surveillance clinique et biologique (en particulier de l'albuminémie) attentive dans ce syndrome probablement sous-diagnostiqué.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P110 - XERODERMA PIGMENTOSUM DE TYPE C ET MELANOMAS MULTIPLES CHEZ UN JEUNE PATIENT

M Abramowicz (1), A Daubos (2), H de Verneuil (3), V Del Marmol (4), C Ged (5), S Norrenberg (6), H Rezvani (7), S Rorive (8), A Taieb (9)

1. Génétique, Hôpital Universitaire Erasme, Bruxelles, Belgique
2. Pôle de Biologie, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France
3. Pôle de Biologie/INSERM U1035, Hôpital Pellegrin/Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France
4. Dermatologie, Hôpital Universitaire Erasme, Bruxelles, Belgique
5. Pôle de Biologie/INSERM U1035, CHU Bordeaux/Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France
6. Dermatologie, Hôpital Universitaire Erasme, Bruxelles, France
7. INSERM U1035, Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France
8. Anatomo-Pathologie, Hôpital Universitaire Erasme, Bruxelles, Belgique
9. Dermatologie-CMRP/INSERM U1035, Hôpital Pellegrin/Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France

Le Xeroderma Pigmentosum (XP) est une génodermatose rare, héritée sur le mode autosomique récessif. Elle est caractérisée par un défaut de réparation de l'ADN lors de lésions induites par les UV, dû à des mutations des gènes du système NER (réparation par excision de nucléotides). La maladie atteint hommes et femmes et a été décrite dans tous les groupes ethniques. Les manifestations les plus précoces associent photophobie, éphélides, sécheresse cutanée et hyperkératose. La photosensibilité est sévère et s'accompagne d'un risque accru de cancers cutanés UV-induits dont la date de survenue est anormalement précoce (avant 10 ans) et le type histologique non mélanocytaire en règle générale.

Sept groupes de complémentation ont été décrits : 6 groupes XP-A à XP-G et une forme variante XP-V. Le type C (XP-C) est lié à des mutations inactivatrices bi-alléliques du gène XP-C impliqué dans le processus de réparation GGR (réparation globale du génome).

Nous rapportons le cas d'un jeune homme de 235 ans, d'origine caucasienne qui a depuis l'enfance des manifestations typiques de la maladie et a développé les premiers cancers cutanés à l'âge de 6 ans. Il s'agit de nombreuses formes de BCC et SCC (basal / squamous cell carcinoma) des zones photoexposées, qui ont précédé l'apparition, à l'âge de 23 ans de multiples localisations de mélanomes de tous types (invasif et in situ)

Le défaut de réparation de l'ADN (activité résiduelle 15%) a été diagnostiqué à l'âge de 15 ans sur des fibroblastes prélevés par biopsie cutanée. L'analyse génétique a permis de mettre en évidence une hétérozygotie composite pour 2 mutations du gène XPC non décrites : un non-sens (p.Tyr647X) et un faux-sens (p.Cys711Arg). L'analyse par western blot de la protéine XPC donne un signal à peine détectable. Comme attendu, chez un patient présentant un phototype I, l'analyse génétique complémentaire qui a intéressé le gène MC1R , en tant que gène de susceptibilité au mélanome, a retrouvé le variant fréquent (p.Val60Leu).

Les particularités de cette observation seront mises en parallèle avec les cas précédemment décrits.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P111 - UNE FORME VARIANTE DE SYNDROME DE SJÖGREN-LARSSON

C SARRET (1), M RIGAL (2), I DORBOZ (2), C VAURS-BARRIERE (2), E EYMARD-PIERRE (2), P COMBES (3), G GIRAUD (2), RJA WANDERS (4), C FRANCANNET (5), O BOESPFLUG-TANGUY (2)

1. Service de pédiatrie, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
2. GReD, Faculté de médecine, Clermont-Ferrand, France
3. Cytogénétique, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
4. Department of genetic metabolic diseases, Academic Medical Center, Amsterdam, Pays-bas
5. Génétique clinique, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France

Le syndrome de Sjögren-Larsson est une maladie génétique rare caractérisée par la triade Clinique : ichtyose, diplégie spastique et retard mental. Il s'associe à une dysmyélinisation à l'IRM cérébrale. Il est du à des mutations dans le gène ALDH3A2 codant pour la FALDH (fatty acid dehydrogenase). Cette enzyme est impliquée dans un complexe enzymatique plus large appelée FAD (fatty alcohol: NAD oxidoreductase). Nous décrivons un patient présentant un syndrome de Sjögren-Larsson d'évolution atypique avec ichtyose congénitale, retard mental et troubles sévères du comportement mais absence de diplégie spastique. L'analyse du gène ALDH3A2 n'a pas permis de détecter de mutation dans les séquences génomiques ou de l'ADNc ni de large délétion malgré une activité enzymatique FAD nettement diminuée. Nous suggérons que ce patient présente une forme variante de Sjögren-Larsson avec déficit dans le complexe FAD sans implication du gène ALDH3A2, évoquant une hétérogénéité génétique dans les formes atypiques de Sjögren-Larsson.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P112 - "PHA2-D" IS A REGULATOR OF ION TRANSPORT IN THE DISTAL NEPHRON AND BLOOD PRESSURE

J BARC (1), S BERGAYA (2), A BONNEFOND (3), N BOUATIA-NAJI (2), P BRUNEVAL (2), P FROGUEL (4), J HADCHOUEL (2), X JEUNEMAITRE (2), H LOUIS-DIT-PICARD (5), C MANDET (2), S MISEREY-LENKEI (6), O PYLYPENKO (6), O SAND (3), JJ SCHOTT (1), C SIMIAN (7), C SOUKASEUM (2), D TRUJILLANO (8), E VIDAL-PETIOT (2)

1. INSERM, UMR915, Institut du thorax, Université de Nantes, Nantes, France
2. INSERM, UMRS-970, PARCC, Paris, France
3. CNRS-UMR8199, Lille Pasteur Institute, Lille, France
4. CNRS-UMR8199, Lille Pasteur Institute, Paris, France
5. INSERM, UMRS-970, PARCC, Paris, Paris, France
6. CNRS UMR144, Institut Curie, Paris, France
7. AP-HP, Département de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
8. Genes and Disease Program, Center for Genomic Regulation and Universitat Pompeu Fabra, Barcelone, Espagne

Familial hyperkalemic hypertension, also known as Pseudohypoaldosteronism type 2 (PHA2) or Gordon's syndrome (OMIM 145260), is a rare autosomal dominant disease which associates net positive Na+ balance with renal K+ retention resulting in hypertension, hyperkalemia and hyperchloremic metabolic acidosis. PHA2 is explained only in a few cases by mutations in the genes encoding With No lysine (K) kinases 1 and 4, which lead to an increase activity of the Na+-Cl- cotransporter (NCC) in the distal nephron. In order to identify other genes causing PHA2, we carried out linkage analysis combined with whole exome sequencing in two informative French families and identified a third gene that we named PHA2-D. This gene encodes for an actin-binding protein that recruit substrates for the Cullin3-based ubiquitin-ligase complex. Direct sequencing of 44 additional cases revealed 11 additionnal missense PHA2-D mutations in 14 families (36% of the cases). Analysis of 1232 cases with essential hypertension revealed only one missense variant, indicating that variants observed in the PHA2-D cases are rare in the hypertensive Caucasian population. Three-dimensional structural modeling showed that the mutated residues are located within conserved motifs at the surface of the molecule, suggesting that they may modify the interaction of the protein with its partners or affect its general structure. We established the renal expression of PHA2-D, using quantitative RT-PCR on isolated segments of the mouse cortical nephron. PHA2-D is highly expressed in the Distal Convoluted Tubule, like NCC, and, to a lesser extent, in the Connecting Tubule. We also found that this protein is associated with NCC in cytosolic punctuated structures, a pool of it being specifically associated to the actin cytoskeleton. Inhibition of PHA2-D expression by RNA interference leads to an increase of NCC expression at the membrane, suggesting its role as a negative regulator of sodium transport in the distal nephron. Our study identifies PHA2-D as a new cause of PHA2 and brings substantial insights to the signaling pathway that regulates ion transport in the distal nephron and the physiopathology of blood pressure.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P113 - RISK FACTORS FOR MALIGNANT VENTRICULAR ARRHYTHMIAS IN LAMIN A/C MUTATION CARRIERS: A EUROPEAN COHORT STUDY

IAW van Rijsingen (1), E Arbustini (2), P Elliott (3), J Mogensen (4), JP van Tintelen (5), AAM Wilde (1), A Perrot (6), S Pankuweit (7), U Aslam (8), AH Zwinderman (9), Ph Charron (8), YM Pinto (1)

1. Heart Failure Research Center, Academic Medical Center, Amsterdam, Pays-bas
2. Center for Heritable Cardiovascular Diseases, IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italie
3. cardiology dept, The Heart Hospital, London, Royaume-Uni
4. cardiology dept, Skejby University Hospital, Aarhus, Danemark
5. Genetics dept, University Medical Center, Groningen, Pays-bas
6. cardiology dept, Charité-Universitaetsmedizin, Berlin, Allemagne
7. cardiology dept, University Hospital, Marburg, Allemagne
8. Inserm UMRS 956 & AP-HP, Hôpital La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
9. Epidemiology dept, Academic Medical Center, Amsterdam, Pays-bas

BACKGROUND: Lamin A/C (LMNA gene) mutations cause a variety of clinical phenotypes, including dilated cardiomyopathy and conduction disease. Many LMNA mutation carriers have a poor prognosis because of a high frequency of malignant ventricular arrhythmias (MVA) and progression to end-stage heart failure. However, it is unclear how to identify mutation carriers that may benefit from implantation of an implantable cardioverter defibrillator (ICD).

OBJECTIVES: The purpose of this study was to determine risk factors that predict malignant ventricular arrhythmias in LMNA mutation carriers.

METHODS: In this multicenter cohort of 269 LMNA mutation carriers, we evaluated risk factors for composite MVA, defined as sudden cardiac death, resuscitation, and appropriate ICD-treatment.

RESULTS: In a median follow-up period of 43 months (IQR 17-101 months), 48 (18%) individuals experienced a first episode of composite MVA: 11 individuals received successful cardiopulmonary resuscitation, 25 individuals received appropriate ICD treatment and total of 12 individuals died suddenly. Independent risk factors for composite MVA were non-sustained ventricular tachycardia, left ventricular ejection fraction less than 45% at the first clinical contact, male gender and non-missense mutations (ins-del/ truncating or mutations affecting splicing). Composite MVA occurred only in individuals with at least two of these risk factors. There was a cumulative risk for composite MVA per additional risk factor.

CONCLUSIONS: Carriers of LMNA mutations with a high risk of composite malignant ventricular arrhythmias can be identified using these risk factors. This facilitates selection of LMNA mutation carriers who are most likely to benefit from implantable cardioverter defibrillator.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P114 - FORME RARE D'UNE RETINITE PIGMENTAIRE ASSOCIEE A UNE AMELOGENESE IMPARFAITE: A PROPOS DE DEUX FAMILLES MAROCAINES

I Cherkaoui Jaouad (1), M ElAlloussi (2), C Inglehearn (3), A Sefiani (4)

1. Département de génétique médicale, Institut national d'hygiène, rabat, Maroc
2. Service d'odontologie pédiatrique, Faculté de médecine dentaire, Rabat, Maroc
3. Section of Ophthalmology and Neuroscience, Leeds Institute of Molecular Medicine, University Of Leeds, Leeds, Royaume-Uni
4. Département de génétique médicale, institut national d'hygiène, rabat, Maroc

Le syndrome de Jalili associe une amélogenèse imparfaite et une dystrophie des cônes et des bâtonnets. Ce syndrome est de transmission autosomique récessive, due à des mutations du gène CNNM4, codant pour un transporteur d'ion métal, identifiées chez plusieurs familles affectées.

Nous présentons dans ce travail les observations de deux familles marocaines, l'une ayant un enfant atteint et l'autre ayant 2 enfants affectés par ce syndrome. L'examen dentaire et ophtalmologique nous a permis de poser le diagnostic du syndrome de Jalili chez les deux familles. Les régions des gènes CNNM4 et CNNM3 ont été exclues chez la 1ère famille, ce qui nous ouvre la voie vers l'identification d'un nouveau gène, grâce à une étude moléculaire en cours chez la 2ème famille.

Ces deux observations représentent un cas rare d'association de rétinite pigmentaire et une mélogénèse imparfaite, dont l'anomalie moléculaire reste à identifier.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P115 - ETUDE GENOTYPIQUE DE 90 MALADES ATTEINTS DE THROMBASTHENIE DE GLANZMANN

M FIORE (1), R HEILIG (2), AT NURDEN (1), P NURDEN (1), X PILLOIS (1), C VINCIGUERRA (3)

1. Centre de Référence des Pathologies Plaquettaires, Hôpital Xavier Arnozan, PESSAC, France
2. Cnrs UMR-8030, Genoscope, EVRY, France
3. ISPB, Faculté de Pharmacie, LYON, France

La thrombasthénie de Glanzmann (TG) est une maladie hémorragique rare, autosomique récessive, résultant d'une anomalie quantitative ou qualitative de l'intégrine αIIbβ3 : principal récepteur permettant aux plaquettes de s'agréger entre-elles. Les 2 sous-unités sont respectivement synthétisées par les gènes ITGA2B et ITGB3. Il existe peu d'études épidémiologiques incluant un grand nombre de malades TG qui soient génotypés. C'est pourquoi, à travers le Centre de Référence des Pathologies Plaquettaires, nous avons rassemblé les ADN de 90 malades, dont la majorité venait de France, et pour lesquels les caractéristiques phénotypiques avaient été préalablement établies. Une collaboration a été entreprise avec le Centre National de Séquençage qui a permis l'analyse chez ces malades des 45 exons et parties introniques flanquantes des 2 gènes.

Les mutations potentiellement délétères, retrouvées chez 84% des patients, dans l'un ou l'autre des gènes, étaient réparties de la manière suivante : 37 patients hétérozygotes composites, 30 patients homozygotes et 9 patients hétérozygotes avec une seule mutation (et pour lesquels la recherche de grandes délétions est en cours). Il s'agissait le plus souvent de mutations ponctuelles et dans 45% des cas de mutations faux-sens. Au total, 88 mutations ont été mises en évidence, dont 73 étaient nouvelles. Les variations étaient plus fréquentes dans ITGA2B (55/88) que dans ITGB3 (33/88). La conservation des acides aminés concernés, ainsi que les éléments de pathogénicité ont été déterminées à l'aide du logiciel Alamut (Bioactive software). La pénétrance intra-familiale des mutations a été étudiée par analyse haute résolution des profils de fusion (HRM). L'effet de certaines substitutions sur la structure protéique a été étudié par l'analyse de modèles tridimensionnels (logiciel Pymol). Par exemple, la substitution Asp314Tyr dans ITGB3, retrouvée à l'état homozygote chez une jeune fille marseillaise, a pu révèler l'importance de cet acide aminé, qui se situe dans le domaine βA de β3 interagissant avec αIIb et conduisant à la non-expression de la glycoprotéine. Chez une autre jeune fille, n'exprimant pas non plus le complexe, la présence de 2 mutations à l'état hétérozygote composite ont été mises en évidence dans ITGA2B. La première mutation correspondait à une mutation non-sens du Trp998. La seconde mutation (Gly978Val) se situait dans le domaine calf-2 d'αIIb, proche de la partie transmembranaire du complexe, révélant ainsi également l'importance de ce domaine dans la formation et l'expression du complexe.

Ce travail, qui apporte de nouvelles données sur les mutations responsables de TG, va permettre une étude approfondie de la corrélation génotype-phénotype pour ces deux gènes, responsables de la principale pathologie impliquant une intégrine. Il reste que pour certains patients, nous n'avons pas pu mettre en évidence de mutations, laissant entrevoir la possibilité que d'autres gènes soient impliqués dans la TG.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P116 - ETUDE GENETIQUE D'UNE PATIENTE TUNISIENNE ATTEINTE DU SYNDROME DE PEARSON : PRESENCE DE LA DELETION MITOCHONDRIALE COMMUNE 4.977 KB ASSOCIEE A DEUX NOUVELLES DELETIONS DE L'ADNMT

I Ben Ayed (1), I Chamkha (1), E Mkaouar-Rebai (1), Th Kammoun (2), I Chabchoub (2), H Aloulou (2), M Hachicha (2), F Fakhfakh (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Université de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Service de Pédiatrie, C.H.U. Habib Bourguiba de Sfax, Sfax, Tunisie

Le syndrome de Pearson est caractérisé par des manifestations prédominant sur la moelle osseuse et le pancréas exocrine. La principale manifestation est l'atteinte de la moelle osseuse caractérisée par une anémie sidéroblastique macrocytaire et une vacuolisation caractéristique des précurseurs de la moelle. Le syndrome de Pearson débute pendant l'enfance et affecte différents tissus et organes. La plupart des nouveau-nés meurent avant l'âge de 3 ans, souvent en raison de l'acidose métabolique et une infection ou insuffisance hépatique. Les patients qui survivent développent le syndrome de Kearns- Sayre (KSS). Le syndrome de Pearson est causé par des délétions et/ou des duplications de l'ADNmt.

Notre étude a porté sur une patiente présentant des signes cliniques de syndrome de Pearson. L'exploration du génome mitochondrial par PCR long range révèle la présence de délétions multiples. En outre, les résultats ont révélé la présence de la délétion commune de 4.977kb et deux nouvelles délétions hétéroplasmiques de 5.030 et 5.234 kb au niveau de l'ADN extrait à partir des leucocytes sanguins de notre patiente. Ces délétions touchent plusieurs gènes mitochondriaux et affectent la phosphorylation oxydative et le métabolisme énergétique de la chaine respiratoire.

De plus, l'analyse du génome mitochondrial par PCR suivi de séquençage a montré la présence de plusieurs polymorphismes m.8104T>C (MT-CO2), m.8227T>C (MT-CO2), m.12609T>C (MT-ND5), m.12705C>T (MT-ND5), m.12903T>C (MT-ND5), m.10873T>C (MT-ND4), m.11719G>A, (MT-ND4) et m.14766C>T (MT-CYB).

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P117 - SPECTRE DES MUTATIONS INTRAGENIQUES D'EHMT1 DANS LE SYNDROME DE KLEEFSTRA.

INTRAGENIC EHMT1 MUTATIONS SPECTRUM IN PATIENTS WITH KLEEFSTRA SYNDROME.

S Drunat (1), A Afenjar (2), Y Alembik (3), C Baumann (4), M Gérard (4), C Mircher (5), M Rio (6), S Whalen (7), A Verloes (4)

1. Département de Génétique, 1- Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. Génétique Médicale, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
4. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
5. Génétique Médicale, Institut Lejeune, Paris, France
6. Génétique Médicale, Hôpital Necker, Paris, France
7. Génétique Médicale, C.H. La Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Le syndrome de Kleefstra est un des plus fréquents syndromes subtélomériques cliniquement reconnaissable associant une déficience intellectuelle, une hypotonie et une dysmorphie faciale caractéristique. Des anomalies rénales ou cardiaques, des troubles du comportement et une épilepsie ont également été rapportés de façon plus variable chez ces patients. Un défaut moléculaire peut être mis en évidence chez 25% des patients. Il s'agit soit d'une délétion submicroscopique de la région 9q34 (75% des cas) soit de mutations intragéniques inactivatrices du gène codant pour l'Euchromatine Human Methyl Transférase 1 (EHMT1).

78 patients présentant un phénotype compatible avec un syndrome de Kleefstra pour lesquels une délétion 9q34 avait préalablement été exclue par FISH, MLPA ou CGH array nous ont été adressés par des généticiens. L'analyse moléculaire du gène EHMT1 a été effectuée par séquençage des 27 exons et des jonctions intron-exon pour la recherche de mutations ponctuelles et par MLPA ciblée pour la recherche des réarrangements intragéniques.

L'étude moléculaire a permis d'identifier une mutation chez 13 patients (17%). Parmi les 8 mutations ponctuelles identifiées, dont 7 ne sont pas décrites à ce jour, 3 sont des mutations non-sens, 4 entraînent un décalage du cadre de lecture aboutissant à un codon stop prématuré et 1 mutation abolit un site d'épissage. 4 des 5 grands réarrangements intragéniques identifiés emportent les premiers exons du gène. Ces mutations, dispersées tout au long du gène, aboutissent toutes à une perte de fonction de la protéine. L'étude des parents dans les cas où leur ADN était disponible nous a permis de confirmer la survenue de novo des mutations. L'étude des caractéristiques cliniques ne montre pas de corrélation génotype-phénotype parmi les patients mutés mais semble indiquer que les atteintes extra neurologiques sont moins fréquemment retrouvées chez ces patients que chez les sujets porteurs d'une délétion 9q34.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P118 - DIAGNOSTIC GENETIQUE DES DIABETES MODY : ANALYSE DE 1516 CAS INDEX CONFIRMES AU NIVEAU MOLECULAIRE

C Bellanné-Chantelot (1), C Saint-Martin (1), F Bellanger (1), S Clauin (1), S Langlois (1), G Leroy (1), C Vaury (1), J Timsit (2)

1. Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Service de Diabétologie, Hopital Cochin-Hôtel Dieu, Paris, France

Introduction: Les diabètes MODY sont dus à un défaut de sécrétion d'insuline et représentent 1-2 % des diabètes. Ils se caractérisent par une grande hétérogénéité tant au plan clinique que génétique. 1/ Le diabète est au premier plan, avec une forte histoire familiale autosomique dominante ; il s'agit des diabètes associés à une anomalie du gène GCK (MODY2) et caractérisés par une hyperglycémie modérée et stable, présente dès l'enfance, et d'autre part, des diabètes diagnostiqués chez l'adulte jeune, associés à une anomalie d'un facteur de transcription, le plus souvent HNF1A (MODY3) et plus rarement HNF4A (MODY1), caractérisés par une hyperglycémie évolutive, des complications micro-vasculaires et une hypersensibilité aux sulfamides. 2/ Le diabète s'intègre dans un syndrome complexe comportant une atteinte rénale évoquant un diabète MODY5 dû à des mutations du gène HNF1B.

Analyse: Séquençage des régions codantes et de la région promotrice (HNF1A, HNF4A) et/ou PCR quantitative (QMPSF, MLPA) des gènes GCK, HNF1A, HNF4A chez 1402 cas de diabète MODY et du gène HNF1B chez 114 cas de diabète MODY5 avec atteinte rénale, reçus entre 1996 et 2011.

Résultats: La rentabilité diagnostique du MODY est respectivement de 35%, 10% et 21% pour les gènes GCK, HNF1A et HNF1B. Parmi les causes génétiques de diabète familial, les mutations GCK sont les plus fréquentes (58%), suivies par HNF1A (39%) et HNF4A (3%). Le diabète MODY3 est plus fréquemment identifié parmi les cas adultes (63%). Les mutations de GCK et HNF1A sont réparties sur l'ensemble du gène et incluent quasi-exclusivement des mutations ponctuelles affectant la région codante, 98% vs. 1% de délétions exoniques ou complètes. Quelques mutations (1%) de HNF1A affectent des sites de liaison à des facteurs de transcription dans la région promotrice. Il existe une corrélation significative entre l'âge de survenue du diabète et le type de mutation HNF1A/4A et le domaine fonctionnel affecté. Les patients avec des mutations dans les exons 1 à 6 développent en moyenne un diabète 10 ans plus tôt (20 vs 30 ans).

Parmi les 114 cas porteurs d'une anomalie moléculaire hétérozygote du gène HNF1B, 54% d'entre eux présentent une large délétion de 1,5 Mb en 17q12 emportant le gène HNF1B et 19 autres gènes. Quelques délétions/duplications exoniques sont observées (7%). Les mutations ponctuelles (40%) affectent principalement les domaines de dimérisation et de liaison à l'ADN (exons 1-4). Contrairement aux diabètes MODY1, 2 et 3, les antécédents familiaux de diabète et/ou atteinte rénale manquent souvent car dans la moitié des cas, l'anomalie HNF1B est survenue de novo.

Conclusion: L'identification des différentes formes de MODY et leur diagnostic différentiel avec le diabète de type 1 et 2 sont importantes. Leur reconnaissance a des conséquences pratiques pour les patients en terme de pronostic, de prise en charge thérapeutique, de recherche d'éventuelles atteintes associées et dans l'éventualité d'un dépistage familial.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P119 - IDENTIFICATION DE GENES DE RETARD MENTAL ET HYBRIDATION GENOMIQUE COMPARATIVE SUR PUCES A ADN (CGH)

MISSIRIAN CHANTAL, POPOVICI CORNEL, SIGAUDY SABINE, BUSA TIFFANNY, PHILIP NICOLE, MONCLA ANNE

T Busa (1), C Missirian (2), A Moncla (1), N Philip (1), C Popovici (1)

1. Département de Génétique Médicale, AP-HM, marseille, France
2. Département de Génétique Médicale, AP-HM, Marseile, France

Ces dernières années ont vu des progrès considérables dans l'identification des gènes impliqués dans le retard mental. La plupart des gènes dont les mutations sont responsables retards mentaux monogéniques « syndromiques » ont été identifiés. A côté de ces syndromes définis, la majorité des patients qui présentent un retard mental ont trop peu de signes spécifiques associés pour définir une entité syndromique et sont donc, décrits comme des retards mentaux non syndromiques, sans possibilité de constituer des groupes homogènes de patients pour des approches de type « exome ». A partir de quatre observations, nous voudrions démontrer que l'hybridation génomique comparative sur puces à ADN (CGH-array) apporte une contribution significative à l'identification de l'étiologie des retards mentaux non syndromiques.

La première observation est celle d'un enfant présentant un retard mental modéré avec une fente labio-palatine unilatérale et des anomalies dentaires à type de double rangée d'insicives. L'analyse en CGH a permis d'identifier une délétion de 80 kb en 2q33.1 contenant un seul gène, SATB2 (SATB homeobox 2). Deux mutations ponctuelles de ce gène ont été rapportées dans un article de la littérature (Leoyklang et al Hum Mut, 2007) L'enquête familiale a confirmé le caractère de novo de cette microdélétion.

La deuxième observation concerne un enfant présentant un retard mental sévère avec des troubles du comportement. Sur le plan physique, il présentait une exostose. Nous avons identifié une délétion de 920 kb localisée dans la région 8q24.11. Cette délétion contient deux gènes : EXT1, gène dont les mutations sont impliquées dans la maladie des exostoses multiples et le gène contigu MED30. Ce gène code pour une sous-unité du complexe Madiator, impliqué dans la régulation de la transcription, complexe auquel appartiennent aussi MED12et MED23, codés par le gène MED12 et MED23 dont les mutations sont responsables de retards mentaux syndromiques. L'enquête familiale a confirmé le caractère de novo de cette microdélétion.

Le troisième patient présente une encéphalopathie sévère et précoce Rett-Like. Nous avons identifié une délétion de 800 kb en 14q12 emportant plusieurs exons du gène PRKD1 codant pour une sérine-thréonine kinase. Une seule observation dans la littérature (Papa et al, A J Med Genet rapporte un patient avec un phénotype similaire mais avec une délétion de deux gènes contigus FOXG1B, annoncé comme gène candidat et PRKD1. Notre observation est en faveur du rôle de la délétion de PRKD1 dans le retard mental.

La dernière observation est celle d'un patient présentant un retard mental sévère avec traits autistique chez lequel nous avons identifié une duplication intragénique du gène IQSEC2 localisé en Xp11.2. Son phénotype est similaire aux quatre cas familiaux avec mutation ponctuelle déja rapportés (Shoulbridge et al, Nat Genet, 2010).

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P120 - SYNDROME D'AARSKOG-SCOTT : PREMIERS CAS DE DUPLICATION DU GENE FGD1 (AARSKOG-SCOTT SYNDROME IN TWO PATIENTS: REPORT OF THE FIRST DUPLICATION IN THE FGD1 GENE).

I Maystadt (1), N Ronce (2), C Hubert (3), S Vonwill (4), K Devriendt (5), MP Moizard (4), M Raynaud (6)

1. Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies, Belgique
2. INSERM U930, CHRU de Tours, Hôpital Bretonneau, Tours, France
3. CHRU de Tours, Hôpital Bretonneau, Tours, France
4. INSERM U930, CHRU de Tours, Hôpital Bretonneau, Tours, France
5. Center for Human Genetics, University Hospital Leuven, Leuven, Belgique
6. INSERM U930, CHRU de Tours, Hôpital Bretonneau, Tours, France

Le syndrome d'Aarskog-Scott, également appelé dysplasie facio-digito-génitale, est une maladie rare liée à l'X qui associe une dysmorphie faciale à des anomalies digitales et génitales. Ce syndrome résulte de mutations du gène FGD1. A ce jour, 28 mutations ponctuelles différentes et 2 délétions intragéniques ont été rapportées dans la littérature. Nous décrivons ici 2 patients de sexe masculin, issus d'une même famille, qui présentent une dysmorphie faciale fortement évocatrice du syndrome d'Aarskog-Scott (visage rond, épi frontal, hypertélorisme, narines antéversées), un retard statural postnatal, des malformations des extrémités (mains larges, camptodactylie, déformation des doigts « en col de signe », metatarsus varus bilatéral), et des anomalies génitales (cryptorchidie, scrotum en châle). Le séquençage complet des exons codants du gène FGD1 n'a mis aucune mutation en évidence. L'étude quantitative par QMF-PCR et PCR en temps réel, et le séquençage du cDNA extrait des lymphocytes, ont par contre permis d'identifier chez ces patients une duplication en tandem des exons 2 à 12 du gène FGD1, vraisemblablement secondaire à une recombinaison homologue non allélique entre deux séquences Alu, et entraînant un décalage du cadre de lecture. Cette duplication intragénique comprend le domaine RhoGEF (DH ou Dbl homology) et le premier domaine pH (Plekstrin homology), et est très probablement à l'origine d'une perte de fonction de la protéine. A notre connaissance, il s'agit de la première description de duplication du gène FGD1, soulignant ainsi l'importance de compléter le séquençage du gène FGD1 par une recherche de larges réarrangements intragéniques en cas de suspicion de syndrome d'Aarskog-Scott .

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P121 - COMPELLING EVIDENCE FOR ARRAY-CGH USEFULNESS IN THE DIAGNOSTIC STRATEGY OF DYSTROPHINOPATHIES

A Ishmukhametova (1), P Khau Van Kien (2), D Thorel (2), D Méchin (2), MC Vincent (2), S Tuffery-Giraud (1), M Claustres (3)

1. Laboratoire de Génétique de Maladies Rares, Université Montpellier1, UFR médecine; INSERM U827, Montpellier, France
2. Laboratoire de Génétique de Maladies Rares, CHU Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. Laboratoire de Génétique de Maladies Rares, CHU Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve; Université Montpellier1, UFR médecine; INSERM U827, Montpellier, France

Background

The DMD gene remains the largest known human gene comprising 79 exons and spanning more than 2Mb on Xp21.1-p21.2. Huge size of the gene, high rate of de-novo mutations and complex mutational spectrum make the molecular diagnosis labour-intensive but thorough genetic counselling and up-to-date therapeutic approaches in Duchenne Muscular Dystrophy stress the need for precise determination of molecular defects. As the majority of DMD mutations (about 70%) are deletions and duplications of one or more exons, most of the current diagnostic methods are intended to detect mutations in the coding region. Here we describe the introduction of a high-resolution custom-designed oligonucleotide comparative genomic hybridisation array (array-CGH) in the current diagnostic practice of a reference laboratory for DMD mutation detection in hemizygous males and heterozygous females.

Patients

A total of 72 male patients with different clinical forms of the disease and 32 female carriers were studied with the following objectives: (1) to confirm previously characterized rearrangements by conventional methods and identify their intronic breakpoints in 52 patients which served like a series of control samples, (2) to confirm MLPA negative results before starting point mutation screening (n=37), (3) to search for the presence of an undetected genomic rearrangement in patients with unknown genetic defect after the comprehensive mutation screening (n=7), (4) to explore apparent discrepancy in genotype/phenotype correlations (n=8).

Results

All 35 deletions, 13 duplications and 4 triplications were confirmed by array-CGH distinguishing the cases of complex rearrangements (double deletion, double duplications). Even aberrations exceeded the borders of DMD were visible by array-CGH implying to be meaningful in the disease manifestation. In one case, the reported in-frame deletion of exon 19 to 44 as determined by Multiplex PCR turned out to be an out-of frame deletion of exon 18 to 44, in concordance with the DMD phenotype. Among the MLPA-negative cases a 21-kb deletion of exon 51 and a 191-bp duplication within exon 20 have found their explanation after breakpoint position identification by array-CGH pointing the important role of this new tool in the diagnostic strategy. Moreover, pure intronic aberrations were detected in 10 cases, and further RNA analysis in two of them allowed us to characterize their pathogenicity.

Conclusion

We confirm that array-CGH use for DMD diagnosis could offer a higher mutation detection rate than some other current exon-based methods, and its reliability and effectiveness strongly depend on the array-CGH design. Thereby, array-CGH can be considered as the first-choice diagnostic approach for the rapid and precise identification of large DMD rearrangements even in deep intronic regions, but its results have to be supported by alternative diagnostic methods.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P122 - DETECTION DE GRANDS REARRANGEMENTS DU GENE DMD : LIMITES TECHNOLOGIQUES DE CERTAINS OUTILS POUR LE DIAGNOSTIC ET LE CONSEIL GENETIQUE

D Méchin (1), D Thorel (1), A Ishmukhametova (2), A Girardet (1), M Cossée (1), S Tuffery-Giraud (2), P Khau Van Kien (1), M Claustres (3), MC Vincent (1)

1. Laboratoire de Génétique de Maladies Rares, CHU Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Laboratoire de Génétique de Maladies Rares, Université Montpellier1, UFR médecine; INSERM U827, Montpellier, France
3. Laboratoire de Génétique de Maladies Rares, CHU Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve; Université Montpellier1, UFR médecine; INSERM U827, Montpellier, France

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. La réalisation de ce diagnostic 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 à la quasi-totalité des demandes de diagnostic, mais nous illustrons ici, à travers 2 cas, les limites d'outils couramment utilisés : la technique MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) et l'analyse automatique des alignements de séquence.

Cas 1 :

Dans le cadre d'une demande de diagnostic pré-implantatoire où la proposante présentait une délétion isolée de l'exon 51 identifiée précédemment par PCR semi-quantitative, nous avons proposé de reprendre l'analyse moléculaire par MLPA pour exclure la présence éventuelle d'un réarrangement plus complexe. Mais l'absence d'anomalie de rapport de dose pour les 79 exons en MLPA suscita de nombreuses interrogations. Une nouvelle PCR semi-quantitative et une analyse par CGH-array sur puce à ADN dédiée confirma la présence d'une délétion d'environ 21 kb dans la région de l'exon 51. Le séquençage des fragments de jonction identifiés par puce expliquait le faux négatif en MLPA : la délétion débute dans l'intron 50 et s'achève au tout début de l'exon 51, avant la zone d'hybridation de la sonde MLPA.

Cas 2 :

Suite à la mise en place de la technique de CGH-array par puce à ADN dédiée pour la recherche de grands réarrangements dans le gène DMD, nous avons repris l'analyse moléculaire chez un jeune patient présentant des signes cliniques et biologiques de dystrophie musculaire de Duchenne sans anomalie délétère encore identifiée : PCR-multiplex, MLPA et séquençage des 79 exons négatifs. L'analyse CGH-array a permis d'identifier une duplication de 191pb concernant la fin de l'intron 19 et le début de l'exon 20. Le séquençage des fragments de jonctions montre que la partie 3' de la duplication implique la sonde MLPA de l'exon 20 à l'exception de la dernière base. Lors du séquençage des 79 exons du gène, le fragment contenant l'exon 20 avait été correctement aligné avec la séquence de référence par le logiciel Seqscape mais sans alerte de reconnaissance de la duplication hémizygote.

Conclusion

Bien que ces cas soient exceptionnels : MLPA négatif, anomalie non reconnue par les logiciels d'analyses de séquence, il nous semble cependant important d'attirer l'attention sur le danger que peut représenter une approche mono technique du diagnostic moléculaire des dystrophinopathies et justifie que des études exhaustives soient réalisées, que les dossiers sans anomalie moléculaire encore identifiée soient régulièrement ré-analysés grâce aux nouveaux outils techniques.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P123 - NOUVELLE MUTATION DANS SLC9A6 CHEZ UN PATIENT ATTEINT D'UN SYNDROME DE CHRISTIANSON AVEC UNE DEGENERESCENCE CEREBELLEUSE

T Billette de Villemeur (1), L Burglen (2), J Bursztyn (3), D Héron (4), A Legall (2), C Mignot (4), M Momtchilova (5)

1. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
2. Service de Génétique Médicale, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Service d'Ophtalmologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. Unité Fonctionnelle de Génétique Médicale, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
5. Service d'Ophtalmologie, Hôpital Trousseau, Paris, France

Le syndrome de Christianson est une pathologie décrite chez 24 garçons jusqu'à présent. Elle est due à des mutations dans le gène SLC9A6 porté par le chromosome X. Ce syndrome est caractérisé par une déficience intellectuelle (DI) sévère associée à des troubles du comportement de la série autistique, une microcéphalie, une épilepsie, des troubles oculomoteurs et parfois une ataxie. Quelques patients développent une pathologie dégénérative, une atrophie du cervelet étant parfois démontrée.

Nous rapportons un patient de 22 ans atteint d'un syndrome de Christianson et porteur de la mutation c.916C>T (p.Gln306X) dans le gène SLC9A6 jamais rapportée jusqu'ici. Le phénotype initial suggérait un trouble envahissant du développement. Le bilan étiologique, y compris l'IRM cérébrale, était normal. L'apparition rapide d'une épilepsie, d'une microcéphalie progressive et d'une limitation de l'abduction du regard avant l'âge de deux ans plaidait en faveur d'un syndrome spécifique. Une ataxie apparue à huit ans avait indiqué la réalisation d'une nouvelle IRM cérébrale montrant une atrophie cérébelleuse dont la caractère progressif a été documenté par une série d'imageries cérébrales jusqu'à l'âge de 21 ans. Des anomalies de l'électrorétinogramme était également apparue, suggérant une altération progressive de l'éléctrogenèse rétinienne.

Cette observation tend à confirmer qu'il existe un ou des éléments dégénératifs touchant notamment le cervelet dans l'histoire naturelle du syndrome de Christianson chez certains patients. Elle suggère que l'étude du gène SLC9A6 devrait être discutée chez des garçons atteints d'une DI sévère et d'une dégénérescence cérébelleuse progressive. Il est probablement plus difficile de faire le diagnostic de la maladie avant l'apparition de l'atrophie du cervelet, si elle survient. Dans ces cas-ci, le diagnostic devrait être discuté devant un syndrome associant une DI sévère, des troubles autistiques et oculomoteurs, et une faciès particulier évoquant une hypotonie faciale.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P124 - HETEROTOPIES NODULAIRES PERIVENTRICULAIRES ET ACCIDENT VASCULAIRE CEREBRAL SYLVIEN CHEZ UNE FILLE PORTEUSE D'UNE DELETION PARTIELLE DU GENE FLNA

A Afenjar (1), C Beldjord (2), B Esteva (3), R favier (4), D Héron (5), A Jacquette (6), A Kaminska (7), B Keren (8), C Mignot (5), B Monier (9)

1. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
2. Service de Biologie Moléculaire et Génétique, Hôpital Cochin, Paris, France
3. Service d'Explorations Endocriniennes, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
4. Service d'Hématologie Biologique et Clinique, Hôpital trousseau, Paris, France
5. Unité Fonctionnelle de Génétique Médicale, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
6. Département de Génétique et Cytogénétique, GH Pitié Salpêtrière, Paris, France
7. Unité Clinique d'Electrophysologie, Hôpital Necker, Paris, France
8. Département de Génétique et Cytogénétique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
9. Service de Pédiatrie, Hôpital Simone Veil, Montmorency, France

Le phénotype des filaminopathies liées à des mutations dans FLNA a été largement décrit dans la littérature et sa richesse a été récemment soulignée par la description détaillée des anomalies plaquettaires et cardiaques associées au phénotype hétérotopies nodulaires périventriculaires (HPN). La survenue d'un accident vasculaire cérébral (AVC) dans cette pathologie est un fait clinique connu mais rarement rapporté.

Nous rapportons une patiente de 12 ans atteinte d'une déficience intellectuelle (DI) légère associée à une hémiplégie spastique et une épilepsie chez qui l'IRM cérébrale montrait : 1) un AVC sylvien unilatéral probablement anténatal expliquant l'hémiplégie et peut-être aussi la déficience intellectuelle, 2) des HNP bilatérales comparables à celles qui sont rapportées dans les altérations génétiques de la filamine A liées à des mutations induisant une perte de fonction d'un allèle FLNA. Les explorations complémentaires retrouvaient : 1) un foramen ovale persistant et une insuffisance aortique avec bicuspidie, et 2) une altération des fonctions plaquettaires. Le séquençage de FLNA mettait en évidence la mutation hétérozygote c.1286C>T (p.T429M) retrouvée chez le père de la patiente, conséquemment considérée comme non pathogène. L'étude en puce pangénomique réalisée dans le contexte de la DI révélait une délétion de 44kb en Xq28 (153194171-153239048) emportant une partie du gène ainsi que le gène TKTL1 situé en 3'.

Au premier regard, l'association d'HNP due à une anomalie du gène FLNA et d'un AVC semble fortuite. Cependant, elle a été rapportée chez quelques enfants adultes, ce qui suggère plutôt une comorbidité rare. La présence d'une malformation cardiaque attribuable à l'haploinsufisance de FLNA est un acteur potentiel de la genèse de l'AVC. De plus, les données apportées par les études plaquettaires dans la maladie et la présence d'anomalies vasculaires dans un modèle murin suggèrent l'implication directe de filamine A dans l'apparition d'interactions pathologiques entre l'endothélium et les plaquettes et/ou d'anomalies vasculaires. Le risque de survenue d'un AVC dans les filaminopathies, qu'ils soient périnataux ou postnataux, reste cependant à évaluer. Notons que l'autre gène délété (TKLT1) code pour une enzyme (transkétolase 1) et n'a été impliqué que de manière anecdotique et non confirmée dans l'encéphalopathie de Wernicke.

Cette patiente est la troisième rapportée avec une délétion de FLNA, les deux autres ayant un tableau classique sans notion d'AVC. En ce qui concerne la stratégie d'investigation moléculaire, cette observation souligne l'intérêt d'une étude du gène FLNA permettant un dosage exonique en complément du séquençage chez les patient(e)s ayant des HNP.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P125 - NOUVEL ECLAIRAGE SUR LES HYPOPLASIES PONTOCEREBELLEUSES : APPORTS DES NOUVEAUX GENES DANS L'ARBRE DECISIONNEL DE DIAGNOSTIC

L Burglen (1), ML Moutard (2), S Chantot-Bastaraud (1), S Joriot (3), V des Portes (4), A Afenjar (2), C Garel (5), A Legall (6), P Berthomé (1), T Billette de Villemeur (2), A Gelot (7), D Rodriguez (8)

1. Service de Génétique et Centre de référence des malformations du cervelet, APHP, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Service de Neuropédiatrie et Centre de référence des malformations du cervelet, APHP, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Service de Neuropédiatrie et Centre de référence des malformations du cervelet, CHU Lille, Lille, France
4. Service de Neuropédiatrie et Centre de référence des malformations du cervelet, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Lyon, France
5. Service de Radiologie et Centre de référence des malformations du cervelet, APHP, Hôpital Trousseau, Paris, France
6. Service de Génétique et Centre de référence des malformations du cervelet, APHP,Hôpital Trousseau, Paris, France
7. Service d'anatomopathologie et Centre de référence des malformations du cervelet, APHP, Hôpital Trousseau, Paris, France
8. Service de Neuropédiatrie et Centre de référence des malformations du cervelet, ÂPHP, Hôpital Trousseau, Paris, France

Les hypoplasies pontocérébelleuses sont un groupe de maladies, souvent héréditaires, caractérisées par une insuffisance de développement ou une dégénérescence précoce du cervelet et du tronc cérébral. Parmi les étiologies, on retrouve des anomalies chromosomiques (délétion 5p), des maladies métaboliques (CDG, mitochondriopathies), des dystrophies musculaires congénitales. De plus, 6 types d'HPC autosomiques récessives ont été définis sur des critères cliniques: HPC1 (atteinte de la corne antérieure) ; HPC2 (microcéphalie progressive et choréoathétose, gènes TSEN54, TSEN34, TSEN2); HPC4 et HPC5, formes sévères, anténatales d'HPC2; HPC3 (épilepsie et atrophie optique, localisée en 7q11-21); HPC6 (maladie mitochondriale liée à des mutations du gène RARS2). D'autres gènes (VLDLR, Reelin, CASK) ont été impliqués dans diverses formes d'HPC.

Nous avons étudié 69 patients de 61 familles (56 enfants; 13 fœtus) présentant une HPC à l'imagerie cérébrale, quelle que soit la présentation clinique. L'étude génétique ciblée par CGH et/ou séquençage des gènes TSEN54, CASK, VLDLR, RARS2 et Reelin a permis de retrouver la cause de l'HPC dans 36 familles (59%). TSEN54 est le gène majeur, impliqué chez 24 patients (18 familles), dont 22 sont porteurs de la mutation majoritaire A307S à l'état homozygote et 2, des fœtus, de cette mutation associée à une mutation d'épissage. La seconde étiologie (14 patients) est l'HPC associée à une microcéphalie liée à l'X (gène CASK). Douze filles présentent le tableau caractéristique, avec atteinte neurologique moins sévère que les patients HPC2, dysmorphie, signes ophtalmologiques et surdité fréquents, alors que 2 garçons présentent, l'un une forme sévère, l'autre une forme atténuée liée à une mutation en mosaïque. Parmi les causes plus rares, nous avons identifié des mutations du gène VLDLR dans une fratrie, une mutation homozygote du gène Reelin chez une enfant, une délétion 5p chez un fœtus. Parmi les patients sans cause génétique identifiée, trois ont une histoire et une imagerie cérébrale compatible avec l'hypothèse d'un accident ischémo-hémorragique. Seuls 4/12 fœtus ont un diagnostic génétique confirmé mais dans 3 autres cas, l'HPC s'intègre dans un tableau polymalformatif.

Ce travail illustre la véritable révolution qui a eu lieu en quelques années dans le diagnostic des hypoplasies pontocérébelleuses. Il confirme que la transmission autosomique récessive est la plus fréquente mais rappelle l'existence de causes accidentelles, génétiques ou non. Il pointe également la difficulté diagnostique qui reste importante dans les cas fœtaux, en raison de l'absence de signes cliniques orientant, de l'insuffisance de connaissance de la neuropathologie des formes post-natales connues et peut-être du fait de certaines étiologies spécifiques. En post-natal, les signes cliniques neurologiques et extra-neurologiques corrélés à l'aspect neuroradiologique nous ont permis d'établir un arbre décisionnel pour le diagnostic génétique.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P126 - ASSOCIATION DE NEUROFIBROMATOSE TYPE 1 ET SYNDROME DE NOONAN : A PROPOS D'UN CAS ET REVUE DE LITTERATURE

ASSOCIATION OF NEUROFIBROMATISIS TYPE 1 AND NOONAN SYNDROME : CASE REPORT AND REVIEW OF LITTERATURE

N Serbati (1), S Tizki (2), S Nassereddine (1), H DEHBI (1), S Nadifi (1)

1. Laboratoire de génétique médicale, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc
2. Servce de Pédiatrie 3- Hôpital d'enfants, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc

Le syndrome de Noonan, appelé à tort « syndrome de Turner masculin », est une pathologie génétique de transmission autosomique dominante, associant habituellement une petite taille, une dysmorphie faciale caractéristique et une cardiopathie congénitale. Il existe plusieurs diagnostics différentiels du syndrome de Noonan ; notamment le syndrome de COSTELLO, de LEOPARD et le syndrome Cardio-Facio-Cutané (CFC).

La neurofibromatose type 1 ou maladie de Recklinghausen est une maladie génétique multisystémique caractérisée par la présence de différents types de neurofibromes. Il existe des tâches café au lait, des lentigines axillaires ou inguinales, des neurofibromes plexiformes ou autres. Au niveau irien, il peut y avoir des nodules de Lisch ou des hamartomes. Elle est très fréquente avec une incidence estimée entre 1/3000 et 1/4000 individus. C'est une affection autosomique dominante ; sa pénétrance est quasi-complète à l'âge de 5 ans. L'association de syndrome de Noonan avec la neurofibromatose de type 1 a été rapportée par plusieurs auteurs.

Nous décrivons le cas d'un enfant âgé de 10 ans présentant un tableau clinique associant des signes de neurofibromatose type1 et de syndrome de Noonan. A travers cette observation, nous mettons le point sur la difficulté de distinguer les critères cliniques permettant de confirmer ce diagnostic vu que les données génétiques sur cette entité restent encore ambigües.

Mots clés : Neufibromatose type 1, Syndrome de Noonan, Tâches café au lait, Dysmorphie faciale, Petite taille.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P127 - A NOVEL REPORT OF 1592C>T MUTATION OF CLCN1 GENE OCCURRING IN AN AUTOSOMAL RECESSIVE FORM OF MYOTONIA CONGENITAL IN A TUNISIAN FAMILY

N Abdelmoula Bouayed (1), F Chouayakh (2)
1. Laboratoire d'histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Exploration fonctionnelle, LP, Sfax, Tunisie

CLCN1, encoding a chloride channel, is the gene associated with myotonia congenital (MC). Sequence analysis of CLCN1 detects more than 95% of mutations causing both the autosomal recessive (AR) form (Becker disease) and autosomal dominant (AD) form (Thomsen disease) of myotonia congenita. The AR form is often associated with a more severe stiffness of muscles than that seen in the AD form and men are more severely affected than women.
In some cases, the same mutation (approximately ten mutations) can occur in both AR and AD myotonia congenital, making it difficult to distinguish clearly between the two modes of inheritance. One of these ten mutations is c.1592C>T (p.Ala531Val).
Here, we report the rare c.1592C>T mutation of CLCN1 in its recessive form, detected in a Tunisian female child (from Sfax town) and her non consanguineous parents (heterozygotes), by sequencing. The index case, who was conceived by intracytoplasmic sperm injection (ICSI) with epididymal spermatozoa using percutaneous epididymal sperm aspiration, was referred to us for genetic confirmation of myotonia congenita. The diagnosis was suggested clinically by the presence of episodes of muscle stiffness and cramps beginning in early childhood, alleviation of stiffness by brief exercise and hypertrophy of some muscles. Diagnosis was supported by electromyography (EMG) which showed spontaneous electrical activity or myotonic bursts. Diagnosis of MC was difficult to confirm because many features. There was no subtle evidence of myotonia on EMG testing of parents. The child suffers from another health problem arising at five years-old. In fact, she presents the syndrome of continuous spikes and waves discharges during slow sleep which is a rare form of age-related epilepsy. Cognitive functions are subsequently altered with neuropsychological deficits (apraxia, attention span etc...). Furthermore, there was no family history consistent with autosomal dominant or autosomal recessive inheritance, except a paternal familial slowness and a maternal familial history of bradycardia (transcutaneous pacing was done for the non consanguineous, mother and father of our child's mother). Additionally, the father was azoospermic with history of right undescended testicle and orchiopexy performed at 10 years-old. He also suffers from multiple sclerosis with a first attack (visual problems) at 39 years-old and a second attack (muscle weakness) five months after. He receives for this, Interferon beta-1a. Cytogenetic exploration reveals a minor chromosomal variant: inv(9).
The parents who asked diagnosis confirmation of MC in their child, to be able to prevent the disease in the next pregnancy refused molecular prenatal diagnosis because of many failed attempts of ICSI. The mother is now pregnant by ICSI using cryoconserved epididymal spermatozoa. A molecular diagnosis will be offered after birth.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P128 - UTILITE DU DOSAGE PLASMATIQUE DE LA PROGRANULINE POUR LE DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DES DEMENCES LOBAIRES FRONTO-TEMPORALES.

F Clot (1), F Lamari (2), S Noël (1), C Jardel (2), I Le Ber (3), I Wargon (3), A Camuzat (3), L Guillot Noël (3), A Brice (3), B Dubois (4), E LeGuern (1)

1. Unité Fonctionnelle de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
2. Unité Fonctionnelle Biochimie des Maladies Neurométabolique, Service de Biochimie Métabolique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
3. CRicm INSERM UMR975, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Paris, France
4. Centre de Référence des Démences Rares, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France

Les dégénérescences lobaires frontotemporales (DLFT) sont caractérisées par des troubles du comportement et du langage. Des mutations du gène de la progranuline (PGRN) sont responsables d'une forme autosomique dominante de DLFT avec inclusions TDP43+. Les mutations identifiées entraînent une haploinsuffisance et depuis 2008 plusieurs études ont montré que la concentration plasmatique de progranuline était fortement abaissée chez les patients porteurs d'une mutation PGRN. Le dosage de la progranuline est effectué sur du plasma EDTA en utilisant une méthode ELISA double sandwiche. Ce test présente l'avantage d'être relativement rapide et peu onéreux par rapport au séquençage des 13 exons du gène PGRN.

Afin d'évaluer l'intérêt du dosage de la progranuline plasmatique comme test de dépistage des mutations PGRN, nous avons réalisé depuis 2009 à la fois le dosage plasmatique de la progranuline et le séquençage du gène PGRN chez 112 individus comprenant des témoins sains, des patients DLFT et des patients Alzheimer. Les concentrations plasmatiques de progranuline obtenus varient entre 12 à 232 ng/ml. Parmi les individus présentant une concentration plasmatique inférieure à 80 ng/ml, 21 avaient une DLFT avec mutation PGRN et 5 (4 DLFT et un témoin) n'étaient pas porteurs de mutation PGRN. Les concentrations plasmatiques de progranuline varient entre 12 et 70 ng/ml (moyenne 36 ng/ml) chez les individus avec mutation et entre 14 et 78 ng/ml (moyenne 57,5 ng/ml) chez les 5 individus sans mutation identifiée. Parmi les individus présentant une concentration plasmatique supérieure ou égale à 80 ng/ml (66 DFLT, 8 Alzheimer et 12 témoins sains) aucun n'était porteur d'une mutation PGRN. Ainsi, pour une valeur seuil de 73 ng/ml, le dosage plasmatique de la progranuline permet de dépister la présence d'une mutation PGRN avec une sensibilité de 100 % et une spécificité de 96 %. A l'heure actuelle, parmi les 4 individus avec une DLFT et non porteurs d'une mutation PGRN, 3 ont été analysés en QMPSF et aucun réarrangement de grande taille n'a été mis en évidence. D'autres investigations seront donc nécessaires afin d'élucider ces cas. Compte tenu de ces résultats, nous avons élaboré une stratégie diagnostique qui consiste à demander un dosage plasmatique de la progranuline chez les patients DFLT avant la réalisation d'un test génétique. Si ce dosage est inférieur à 100 ng/ml, l'analyse moléculaire du gène PGRN est réalisée. Si ce dosage est supérieur ou égal à 100 ng/ml, l'analyse moléculaire n'est pas réalisée.

Le dosage plasmatique de la progranuline, moins onéreux et plus rapide que le séquençage du gène PGRN, constitue donc un excellent biomarqueur pour le diagnostic moléculaire des DLFT. Cependant la découverte récente d'un nouveau gène (C9ORF72) fréquemment impliqué dans les formes sporadiques et familiales des DLFT remet en question la demande systématique de ce dosage en première intention pour la réalisation d'un test génétique dans les DLFT.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P129 - ETUDE DU GENE CFTR POUR 13 FAMILLES MOLDAVES DANS LE CADRE D'UNE MISSION DE « PEDIATRE DU MONDE »

STUDY OF THE CFTR GENE IN 13 MOLDOVAN FAMILIES AS PART OF A MISSION TO "PEDIATRICIAN OF THE WORLD"

MP REBOUL (1), A BRUN (1), A JIVALCOVSCHI (2), R BARBIER (3), S BUI (4), S LABATUT (1), MH DEALBERT (1), N BARBOVA (5), B ARVEILER (1), B ARVEILER (6), A IRON (1), P FERGELOT (1)

1. Service de Génétique Médicale, Groupe Hospitalier Pellegrin, bordeaux cedex, France
2. Association Ajutor Copiilor, Hôpital Cotaga, Chisinau, Moldavie
3. Service de Pédiatrie et de Néonatologie, Centre Hospitalier de Dax-Côte d'Argent, Dax, France
4. CRCM pédiatrique, Groupe Hospitalier Pellegrin, bordeaux cedex, France
5. Laboratoire de génétique moléculaire, centre national de la santé de la reproduction et de génétique médicale, Chisinau, Moldavie
6. Univ. Bordeaux, Maladies Rares : Génétique et Métabolisme (MRGM), EA 4576, Université de Bordeaux, bordeaux cedex, France

Dans le cadre d'une collaboration Franco-Moldave coordonnée par l'association « Pédiatre du Monde », le laboratoire de génétique moléculaire du CHU de Bordeaux a réalisé l'analyse du gène CFTR pour 13 enfants moldaves.

La Moldavie est un petit pays situé entre la Roumanie et l'Ukraine. Elle compte 3 388 000 habitants dont les revenus proviennent essentiellement de la très importante diaspora. L'histoire du pays a vu des occupations Russes, Roumaines et Ukrainiennes, on peut donc s'attendre à retrouver des mutations communes à ces pays.

Une recherche de la mutation p.Phe508del a été réalisée au préalable en Moldavie. L'ADN des patients, hétérozygotes ou non porteurs de cette mutation, dont le test de la sueur, pratiqué par une technicienne de notre laboratoire lors d'une mission en Moldavie, était > 60 mmol/l ou dont l'histoire clinique était fortement évocatrice, nous a été adressé entre 2008 et 2010.

Nous avons étudié 13 cas index et 28 apparentés (pères, mères, frère/sœur). Nous avons pu établir les génotypes complets dans tous les cas. Sur les 26 chromosomes analysés, 15 portaient une mutation présente sur le le kit INNO-LiPA CFTR. Huit mutations différentes ont été identifiées. La mutation p.Phe508del, majoritaire en France, n'est retrouvée que dans 34,62 % des chromosomes moldaves étudiés. Bien que notre étude ne comprenne pas les patients trouvés homozygotes p.Phe508del en Moldavie, ce chiffre reste cohérent avec ceux de la littérature (50% en Italie) et le gradient Nord-Ouest/Sud-Est observé pour cette mutation.

Sur les 11 chromosomes porteurs d'une mutation non présente dans le kit INNO-LiPA CFTR, 7 mutations différentes ont été identifiées par séquençage direct.

En particulier, la mutation c.2052dup, p.Gln685ThrfsX4 (2184insA) située sur l'exon 14 a été identifiée chez 3 patients à l'état hétérozygote. Cette mutation est retrouvée dans les pays de l'Est avec des valeurs supérieures à la France (5% vs 0.7%).

De plus, nous avons mis en évidence dans une famille, une mutation non décrite dans la littérature, c.531dup, p.Gly178TrpfsX5 située dans l'exon 5.

Pour une des familles moldaves étudiées, un diagnostic prénatal (DPN) a été réalisé dans notre laboratoire. Le foetus était atteint de mucoviscidose et les parents ont décidé d'interrompre médicalement la grossesse.

En conclusion, la cohorte de patient étudiée ici est très faible et n'est pas représentative de l'ensemble des patients Moldaves. Elle ne permet donc pas d'établir des statistiques fiables sur la fréquence des mutations. Cependant c'est une première approche sur le panel des mutations retrouvées en Moldavie. Nous recommandons la recherche en 1ère intention des mutations p.Gln685ThrfsX4 et p.Gly178TrpfsX5 chez tout patient ou apparenté d'origine moldave.

Au-delà de l'intérêt diagnostique, le fait de connaitre le génotype des cas index permet de les inclure dans des groupes en vue d'essais thérapeutiques (en fonction des mutations, des atteintes, de l'âge…).

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P130 - MUTATIONS PAR SUBSTITUTION DE NUCLEOTIDES CONSECUTIFS : UN NOUVEAU TYPE DE VARIATION GENOMIQUE RESPONSABLE DE PATHOLOGIE GENETIQUE HUMAINE

JM Chen (1), DN Cooper (2), C Férec (1)
1. Génétique, INSERM U613 and EFS-Bretagne, Brest, France
2. Institute of Medical Genetics, Cardiff University, Cardiff, Royaume-Uni

Human genomic variation takes many forms, ranging from the single nucleotide substitution to large-scale chromosomal rearrangements. Using data mainly acquired from the Human Gene Mutation Database (HGMD, www.hgmd.org), we have recently identified an important new source of pathogenic genomic variation, namely, multiple mutations, comprising at least one single nucleotide substitution, whose components are separated by at least one base (Hum. Mutat. 2009;30:1435-48). The meta-analysis of these events not only revealed a novel mechanism of mutagenesis (i.e., transient hypermutability) underlying human inherited disease but also raised serious concerns regarding current practices in mutation screening in a diagnostic context.

Here, we report the identification of a further important source of genomic variation causing human inherited disease, viz. consecutive nucleotide substitution mutations, again using data from HGMD. Up to 99% of such mutations are double nucleotide substitutions (e.g. CT>AG) whilst the other 1% comprise mainly triple nucleotide substitutions (e.g. TTG>CAC). Approximately 85% of the doublet mutations occurred within coding sequences whilst the remaining 15% occurred within intronic or regulatory sequences. Of the doublet mutations that occurred within coding sequence, approximately 85% affected single codons whilst the remaining 15% affected two codons.

Exploring the possible mutational mechanisms underlying these consecutive nucleotide substitutions yielded several conclusions. First, for the vast majority of the consecutive nucleotide substitutions, the component lesions are likely to have resulted from a single mutational event. Second, consecutive nucleotide substitutions of more than four bases often appear to differ from those of fewer than four bases in terms of their underlying mutational mechanisms. Third, gene conversion is a comparatively infrequent cause of the doublet mutations whilst transient hypermutability can in principle account for the generation of the vast majority of the doublet and triplet mutations. Fourth, mutational mechanisms other than transient hypermutability can account for the generation of at least some consecutive nucleotide substitutions.

In summary, we have identified a novel type of genomic variant and evaluated its pathogenic relevance. We have also obtained several novel insights into the mutational mechanisms underlying this unique type of genomic variation.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P131 - CRIBLAGE MOLECULAIRE D'UNE COHORTE DE 65 PATIENTS ATTEINTS DE SPASMES INFANTILES

N BOUTRY KRYZA (1), D VILLE (2), R TOURAINE (3), A LABALME (4), AL POULAT (2), M TILL (4), M ROSSI (4), E PONCHEL BOUREL (5), F PRIEUR (3), J de BELLESCIZE (6), A CALENDER (1), P EDERY (4), D SANLAVILLE (4), G LESCA (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France
2. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Femme Mère Enfant, Bron, France
3. Service de Génétique, Hôpital Nord, Saint-Etienne, France
4. Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie Est, Bron, France
5. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Nord, Amiens, France
6. Service d'épilepsie et explorations fonctionnelles neuropédiatriques, Hôpital Femme Mère Enfant, Bron, France

Le syndrome de West est caractérisé par l'association chez un nourrisson de salves de spasmes, d'un retard du développement psychomoteur et d'anomalies caractéristiques à l'EEG (hypsarythmie). L'age de début est situé entre 3 et 7 mois avec une incidence de 1/6000. Le pronostic est réservé dans 80 % des cas.

Sur un plan étiologique, outre les formes acquises (infections du système nerveux central, séquelles anoxo-ischémiques ou post traumatiques) les formes congénitales incluent les malformations cérébrales, les maladies métaboliques et les formes génétiques (trisomie 21, délétion 1p36 pour les syndromes chromosomiques, sclérose tubéreuse de Bourneville (STB), mutation du gène ARX, et plus récemment CDKL5 pour les formes monogéniques).

L'enjeu de l'enquête étiologique est important : d'une part la cause sous-jacente est un facteur pronostic majeur, d'autre part la demande de conseil génétique devient de plus en plus fréquente. A ce jour, la moitié de ces patients reste sans étiologie identifiée.

Nous présentons ici l'analyse génétique d'une cohorte de 65 enfants atteints de spasmes infantiles sans étiologie après un premier bilan comprenant une IRM cérébrale, un caryotype standard, une recherche de mutation du gène ARX, un bilan à visée métabolique standard normal et l'absence d'argument clinique pour une STB. Les spasmes sont survenus soit d'emblée soit sur un tableau d'encéphalopathie épileptique préexistant.

Notre stratégie d'analyse s'est portée sur le séquençage direct de 4 gènes :

- Les gènes CDKL5 et STXBP1, causes d'encéphalopathie précoce pouvant évoluer vers des spasmes. Le but ici est d'évaluer leur implication sur une telle cohorte.
- Le gène GRIN2A, tout récemment impliqué dans la survenue d'épilepsie. Seules 3 mutations ayant pour l'instant été décrites, le phénotype clinique associé est mal établi.
- Le gène MAGI2, mis en cause chez des patients atteints de spasmes et d'un syndrome de Williams-Beuren (WB). Chez les enfants présentant une telle association, la délétion est de plus grande taille que celle observée dans le WB classique et comprend le gène MAGI2 qui peut donc être considéré comme candidat pour expliquer la survenue des spasmes.

Tous ces patients bénéficient également d'une analyse pangénomique par Analyse Chromosomique sur Puce à ADN afin de mettre en évidence des variations du nombre de copies (CNV) pouvant orienter les recherches vers d'autres gènes candidats.

A ce jour, une mutation du gène CDKL5 délétère a été identifiée sur l'ensemble de la cohorte. Cette mutation de novo n'a pas été retrouvée dans les bases de données. 2 mutations de novo de STXBP1 non décrites ont également été mises en évidence sur le séquençage de 50 patients. 40 patients ont été analysés pour le gène MAGI2 sans variation identifiée pour l'instant. Le gène GRIN2A est en cours d'analyse. L'analyse pangénomique retrouve à ce jour une délétion 2q22.3q24.2 et une délétion 9qter chez 2 enfants. Nous présenterons l'ensemble des résultats.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P132 - IDENTIFICATION DE MUTATIONS DU GENE GATA3 CHEZ 3 PATIENTS ATTEINTS DU SYNDROME HDR ET REVUE DE LA LITTERATURE.

M Louha (1), L Jonard (2), C Bonnet (3), S Gherbi (4), V Drouin-Garraud (5), JL Wemeau (6), B Letavernier (7), R Couderc (8), NE Garabédian (9), F Denoyelle (9), S Marlin (10)

1. Service de Biochime et Biologie Moléculaire, CMR Surdités Génétiques, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, CMR Surdités Génétiques, INSERM, UMRS587, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. INSERM, UMRS587, Hôpital Trousseau, Paris, France
4. CMR Surdités Génétiques, Service de Génétique et Embryologie Médicale, Hôpital Trousseau, Paris, Finlande
5. Service de Génétique Clinique, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
6. Service d'Endocrinologie, Diabétologie et Métabolisme, Hôpital Claude Huriez, Lille, France
7. Service de Néphrologie, Hôpital Trousseau, Paris, France
8. Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital Trousseau, Paris, France
9. Service d'ORL pédiatrique, CMR Surdités Génétiques, INSERM, UMRS587, Hôpital Trousseau, Paris, France
10. CMR Surdités Génétiques, INSERM, UMRS587, Service de Génétique et Embryologie Médicales, Hôpital Trousseau, Paris, France

Le syndrome HDR (Hypoparathyroidism-Deafness-Renal dysplasia) (MIM 146255) est une affection héréditaire rare transmise selon le mode autosomique dominant. Elle se caractérise par l'association d'une hypoparathyroïdie, d'une surdité et d'une atteinte rénale. Cette triade phénotypique n'est cependant pas toujours présente chez les patients. En effet, l'atteinte rénale est hétérogène avec une pénétrance variable.

Le syndrome HDR est dû à une mutation du gène GATA3 codant un facteur de transcription contenant deux domaines en doigt de zinc (ZnF1 et ZnF2). Le domaine ZnF2 se lie au motif consensus 5'-(A/T)GATA(A/G)-3' de la séquence régulatrice des gènes cibles, tandis que le domaine ZnF1 stabilise cette liaison.

A ce jour, plus de 40 mutations réparties sur tout le gène GATA3 ont été identifiées chez des patients atteints du syndrome HDR.

Nous rapportons ici, les résultats de l'analyse moléculaire du gène GATA3 réalisée chez trois patients présentant des signes évocateurs du syndrome HDR.

Le patient 1 et 2 sont porteurs des mutations c.431dup (p.His145ProX159) et c.1099C>T (p.Arg367X) respectivement. Ces mutations ont déjà été rapportées dans la littérature.

Le patient 3 est porteur de la délétion (c.807_812del ; p.Ser271_Thr272del), qui n'a jamais été rapportée auparavant. Celle-ci conduit à la perte de deux acides aminés très conservés du domaine en doigt de zinc ZnF1.

Ainsi, nous avons identifié une nouvelle délétion du gène GATA3 associée au syndrome HDR, ce qui élargit le spectre des mutations responsables de cette pathologie. Nous reprendrons l'ensemble des mutations actuellement décrites et les phénotypes correspondant.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P133 - ETUDE DU GENE SLC29A3 DE L'HISTIOCYTOSE DE ROSAI-DORFMAN A LA SURDITE : L'EXPERIENCE FRANÇAISE.

L Jonard (1), V Couloigner (2), S Pierrot (2), B Neven (3), A Fischer (3), J Donadieu (4), M Louha (5), S Gherbi (6), R Couderc (7), NE Garabédian (8), F Denoyelle (8), S Marlin (9)

1. Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, CMR Surdités Génétiques, INSERM, UMRS587, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Département d'Oto-Rhino-Laryngologie pédiatrique, Hôpital Necker, Paris, France
3. Département d'immunologie, Hôpital Necker, Paris, France
4. Centre de référence des histiocytoses, Hôpital Trousseau, Paris, France
5. Service de Biochime et Biologie Moléculaire, CMR Surdités Génétiques, Hôpital Trousseau, Paris, France
6. CMR Surdités Génétiques, Service de Génétique et Embryologie Médicale, Hôpital Trousseau, Paris, Finlande
7. Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital Trousseau, Paris, France
8. Service d'ORL pédiatrique, CMR Surdités Génétiques, INSERM, UMRS587, Hôpital Trousseau, Paris, France
9. CMR Surdités Génétiques, INSERM, UMRS587, Service de Génétique et Embryologie Médicales, Hôpital Trousseau, Paris, France

SLC29A3 est impliqué dans une forme syndromique de génodermatose : le syndrome H. Les principales caractéristiques présentes dans ce syndrome sont : surdité (Hearing loss), Hyperglycémie, anomalies cardiaques (Heart anomalies), Hypertrichose, Hyperpigmentation, Hépatomégalie et Hypogonadisme. Plus récemment, des mutations du gène SLC29A3 ont également été décrites dans des familles présentant d'autres syndromes associant histiocytose généralisée avec des caractéristiques systémiques progressives, camptodactylie sévère, surdité, hypogonadisme, hépatomégalie, insuffisance cardiaque et hyperpigmentation cutanée. Nous avons identifié une mutation faux-sens du gène SLC29A3 à l'état homozygote chez un patient présentant uniquement une surdité neurosensorielle évolutive et un nodule cervical unique avec un aspect histologique d'histiocytose de Rosai-Dorfman. Cette même mutation a ensuite été retrouvée chez un autre patient présentant une histiocytose de Rosai-Dorfman, une surdité profonde, une inflammation chronique avec épisodes de péricardite et des troubles ophtalmologiques. Elle a enfin été identifié chez un jeune patient atteint actuellement uniquement d'une histiocytose de Rosai-Dorfman et d'u syndrome inflammatoire. Les trois familles sont originaires d'Afrique du Nord (Maroc, Tunisie) et leur mutation pourrait être liée à l'existence d'un ancêtre commun. Nos résultats suggèrent que SLC29A3 devrait être étudié chez tous les patients présentant l'association d'une histiocytose et d'une surdité.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P134 - GENOTYPAGE PAR HRM ET SEQUENÇAGE DE 50 SNPS POUR ETUDE DE GENES MODIFICATEURS DES ATTEINTES HEPATIQUES DANS LA MALADIE DE RENDU-OSLER

S LEFEBVRE (1), J CHAMBON (1), L BENBOUBAKER (1), A FINAT (1), A BOSSU (1), S DUPUIS-GIROD (2), B GILBERT-DUSSARDIER (3), A KITZIS (3), M EYRIES (4), F SOUBRIER (4), MF CARETTE (5), G LESCA (1), A CALENDER (1), S GIRAUD (1)

1. Service de génétique moléculaire et clinique, Hôpital Edouard Herriot - Hospices civils de Lyon, LYON, France
2. Service de génétique clinique - Centre de référence de la maladie de Rendu-Osler, Hôpital Louis Pradel - Hospices civils de Lyon, BRON, France
3. Service de génétique, CHU de Poitiers, POITIERS, France
4. Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
5. CAMROT - Service de radiologie, Hôpital Tenon, PARIS, France

La maladie de Rendu-Osler ou HHT (Hemorraghic Hereditary Telangiectasia) est une maladie héréditaire de transmission autosomique dominante dont les critères sont le caractère héréditaire, les télangiectasies, les épistaxis et les malformations artérioveineuses viscérales (MAV) qui peuvent être pulmonaires, neurologiques ou hépatiques.

Les gènes majeurs impliqués dans cette pathologie sont ENG, ACVRL1 et SMAD4. Ils codent pour des protéines qui interviennent dans la voie du TGFβ qui a un rôle dans les mécanismes de différenciation, prolifération et mort cellulaire.

L'expressivité de la maladie est très variable d'un patient à l'autre, y compris au sein d'une même famille, suggérant l'existence, à côté de la mutation germinale du gène majeur, de facteurs de susceptibilité additionnels, génétiques ou non. L'existence de gènes modificateurs a par ailleurs été démontrée pour plusieurs autres maladies héréditaires.

Le but de notre étude est de rechercher l'association de SNPs de gènes candidats pouvant modifier l'atteinte hépatique chez 380 patients atteints de HHT et porteurs d'une mutation sur ENG ou ACVRL1.

Ainsi nous avons étudié des TAG-SNP (Single Nucleotide polymorphism) situés dans 9 gènes : les 3 gènes majeurs ainsi que 6 gènes impliqués dans la même voie de signalisation (GDF2, TGFβ1, TGFβR1, SMAD1, SMAD5 et PTPN14). Ils ont été sélectionnés parmi les données de la base Hapmap et analysés par le logiciel Haploview en choisissant une fréquence minimale pour l'allèle mineure de 0,049.

La technique de génotypage utilisée est l'HRM (Hight Resolution Melting) pour laquelle nous avons choisi des amplicons courts (

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P135 - AIDE A L'INTERPRETATION DES VARIANTS DE SIGNIFICATION CLINIQUE INCONNUE : L'EXEMPLE D'UMD-CFTR-FRANCE – BANQUE DE DONNEES LOCUS SPECIFIQUE

C THEZE (1), C BAREIL (1), MP AUDREZET (2), C FEREC (2), E GIRODON (3), A DE BECDELIEVRE (3), T BIENVENU (4), MC MALINGE (5), MP REBOUL (6), P FERGELOT (6), G LALAU (7), F FRESQUET (8), A KITZIS (8), V GASTON (9), E BIETH (9), M CLAUSTRES (1), M DES GEORGES (1)

1. Génétique Moléculaire, CHU Montpellier, Montpellier, France
2. Génétique Moléculaire et Histocompatibilité, CHU Brest, Brest, France
3. Biochimie et Génétique, GH Henri Mondor, Créteil, France
4. Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin Brocca Hôtel Dieu, Paris, France
5. Biochimie et Génétique, CHU Angers, Angers, France
6. Génétique Moléculaire, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
7. Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Lille, Lille, France
8. Génétique, CHU Poitiers, Poitiers, France
9. Génétique Médicale, CHU Toulouse, Toulouse, France

L'étude approfondie des gènes impliqués dans les maladies héréditaires dans les laboratoires spécialisés conduit à identifier de nombreux variants de signification clinique inconnue (UV – Unclassified Variants). UMD-CFTR-France est une banque de données locus spécifique (LSDB) dédiée aux variations de séquence du gène CFTR identifiées chez les patients atteints de mucoviscidose (CF) et de pathologies plus modérées (CFTR-RD – Related Disorders) ainsi que chez les sujets sains porteurs de 2 variations de séquence en trans. Elle a été créée en décembre 2008 avec la collaboration de 9 laboratoires français spécialisés dans l'analyse du gène CFTR et le soutien de l'Association Vaincre la Mucoviscidose.

3 473 sujets sont intégrés : 68,7% atteints de CF, 24,16% de CFTR-RD, 7,14% en attente de diagnostic précis ou sujets sains porteurs de 2 variations de séquence en trans. Parmi les 12 507 données moléculaires intégrées, nous répertorions 581 variations différentes : 60,6% sont classées «mutation» et 1,7% «allèle complexe» (impliqués dans la maladie) ; 8,4% «polymorphisme». Près de 30% restent des UV (faux-sens, isosémantique, ou altération des régions introniques).

Un volet «épidémiologie» est en développement. Les variations identifiées sur 500 chromosomes de sujets issus de la population générale (exploration complète des 27 exons et de leurs séquences flanquantes) sont compilées.

Les 9 laboratoires participants ont directement accès aux données ce qui facilite les échanges et les collaborations pour avancer dans l'interprétation de ces variants. Un travail de classification portant sur 262 altérations faux-sens et 98 introniques a été réalisé en tenant compte de leur fréquence chez les patients, de la description initiale dans la banque de données CFMD (Toronto), de l'étendue de l'exploration moléculaire, de la ségrégation familiale et autant que possible des données bibliographiques. Les faux-sens ont systématiquement bénéficié d'une étude in silico (logiciels AlignGVGD, SIFT, PolyPhen2 et MAPP) permettant de proposer aux collaborateurs une première évaluation (UV1 à UV4 d'après les recommandations internationales, Clinical Molecular Genetics Society, 2007).

Des études complémentaires seront mises en place pour affiner ce résultat : intégration de données cliniques détaillées (collaboration avec Vaincre la Mucoviscidose), utilisation de données épidémiologiques complètes chez les patients (fréquence du variant, haplotype à risque,…), de données épidémiologiques dans la population générale (en développement), utilisation des résultats des études fonctionnelles réalisées par les équipes (après publication).

Le recours au séquençage de nouvelle génération va inéluctablement accroître l'identification des UV. Dans ce contexte, l'intérêt des LSDB qui répertorient toutes les variations d'un gène donné sera alors majeur. Leur accessibilité facilitera les études collaboratives permettant de progresser dans la compréhension des maladies héréditaires.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P136 - A NEW MUTATION OF FOXP3 IN IPEX SYNDROME'S TUNISIAN FAMILY

N Abdelmoula Bouayed (1)

1. Laboratoire d'histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie

IPEX syndrome (MIM 304790) is an exceptionally severe multisystemic disorder inherited in an X-linked recessive manner. Diagnosis is based on clinical findings but mutation analysis of FOXP3 at Xp11.23, which is the only gene currently, known to be associated with IPEX syndrome, can be confirmatory. Approximately 50% of males with IPEX syndrome have mutations identified in FOXP3.

We report a new mutation of FOXP3 gene at exon 12, identified in a Tunisian child who presents IPEX syndrome with a good evolution after immunosupressor treatment. The child, has the triad of chronic watery diarrhea, eczematous dermatitis (ED), and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) developed at three months. He has also recurrent infections, anaemia and thrombocytopenia. He is the fourth child of a consanguineous couple. The first child (a male) died after 3 months, suffering from watery diarrhea, sepsis and metabolic derangements. He had ED and IDDM since the birth. The third child (also, a male) had diarrhea since birth and harboured ED and IDDM after 2 months. He died after one year by sepsis and metabolic derangements. The fourth child is our index case.

Molecular diagnosis of the alive child by direct sequencing of FOXP3 reveal a first time reported mutation which a large deletion of 27 nucleotides resulting in an in-frame deletion of 9 amino acids. Such molecular genetic testing allows genetic counseling with a prenatal diagnosis for next pregnancies of the couple.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P137 - MUTATIONS DE CDMP1 : BRACHYDACTYLIE DE TYPE C / DYSPLASIE EN AILES D'ANGES / SYNDROME DE GREBE ET SYMPHALANGISME PROXIMAL : EXPERIENCE FRANÇAISE A PARTIR DE 20 FAMILLES ET CORRELATION GENOTYPE-PHENOTYPE.

S MANOUVRIER-HANU (1,2), M HOLDER-ESPINASSE (1,2), F PETIT (1,2), O BOUTE-BENEJEAN (2), A DIEUXCOESLIER (2), S ODENT (3), A GOLDENBERG (4), M LE MERRER (5),M GERARD (6), V CORMIER-DAIRE (5), Y ALEMBIC (7), G BAUJAT (5), G PLESSIS (6), G MORIN (8), L FAIVRE (9), F ESCANDE-NARDUCCI (10)

1. Génétique clinique, CHRU, Lille, France
2. Université Lille Nord de France
3. Génétique clinique, CHU, Rennes, France
4. Génétique clinique, CHU, Rouen, France
5. Génétique, CHU Necker, Paris, France
6. Génétique clinique, CHU, Caen, France
7. Génétique, CHU, Strasbourg, France
8. Génétique clinique, CHU, Amiens, France
9. Génétique clinique, CHU, Dijon, France
10. Génétique moléculaire, CHRU, Lille, France

Le gène CDMP1 (Cartilage Derived Morphogenetic Protein 1), également appelé GDF5 (Growth Differenciation Factor 5) est situé en 20q11.2. Il code une protéine qui appartient à la famille des BMP (Bone Morphogenetic Proteins) et à la super-famille des TGF-b. Dont la structure est caractérisée par un site de clivage séparant le prodomaine du domaine actif et la présence d'un motif de 7 au niveau de ce dernier.

Chez les vertébrés CDMP1 est impliqué dans la chondrogenèse et l'apoptose nécessaire au positionnement des articulations (15,17). De manière intéressante, le polypeptide Noggin antagonise sa voie de signalisation en rentrant en compétition avec CDMP1 au niveau de son récepteur serine-threonine kinase. Or, on sait que les mutations « perte de fonction » de NOG sont responsables de symphalangisme et de la maladie des synostoses multiples.

Chez l'homme, on note une hétérogénéité allélique des mutations de CDMP1 à l'état hétérozygote, aboutissant à une haplo-insuffisance sont responsables de brachydactylie de type C (BDC [MIM 113100]) ou de brachydactylies de type A2 (BDA2 [MIM 112600]) ou ressemblant à la brachydactylie type A1 (BDA1 [MIM 112500], en encore de dysplasie en ailes d'ange (ASPED [MIM 105835]. Celles qui aboutissent à un gain de fonction donnent le Symphalangisme proximal (SYM1 [MIM 185800]) ou la maladie des synostoses multiples (SYN2 [MIM 610017]). A l'état homozygote, beaucoup plus rare, responsable d'une perte de fonction, elles engendrent diverses affections autosomiques récessives, la dysplasie acromesomelique de Hunter-Thompson [MIM 201250], la chondrodysplasie de Grebe, (SG [MIM 200700]), et l'hypoplasie fibulaire avec brachydactylie complexe de Du Pan [MIM 228900].

Nous rapportons 20 cas index et leurs 21 apparentés porteurs de mutations de CDMP1, le diagnostic clinique était dans 14 cas de BDC, 4 cas d'ASPED, un cas de symphalangisme, et 1 cas de syndrome de Grebe. Dix-huit mutations ont été identifiées (deux sont retrouvées dans 2 familles non apparentées, 15 / 18 n'avaient, à notre connaissance, pas été décrites auparavant, 14 /18 sont des mutations tronquantes. Dans cette série, nous confirmons que les mutations tronquantes sont réparties sur l'ensemble du gène, et associées à des BDC ou ASPED, alors que les mutations ponctuelles sont retrouvées au niveau du domaine actif, plus volontiers responsable de symphalangisme à l'état hétérozygote, ou de syndromes de Grebe, Hunter-Thompson ou Du Pan à l'état homozygote.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P138 - LES DUPLICATIONS XQ28 DANS L'HEMOPHILIE : UN PROBLEME POUR LE CONSEIL GENETIQUE

C Costa (1), C Rothschild (2), E Bieth (3), A Briand (4), C Metay (4), W Verbecq-Morlot (5), S Letourneau (6), M Goossens (4)

1. APHP UF de Génétique et INSERM U955 équipe 11, CHU Henri Mondor-Albert Chenevier, Creteil, France
2. Centre de Traitement des Hémophiles, Necker Enfants Malades, Paris, France
3. Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France
4. APHP UF de Génétique et INSERM U955 équipe 11, CHU Henri Mondor Albert Chenevier, Creteil, France
5. INSERM U955 équipe 11, CHU Henri Mondor Albert Chenevier, Creteil, France
6. APHP UF de Génétique, CHU Henri Mondor Albert Chenevier, Creteil, France

Dans l'hémophilie A sévère, 50% des patients sont porteurs d'une inversion du gène F8 due à une recombinaison intra chromosomique entre une séquence située dans l'intron 22 et une des 2 copies homologues distales. Leur orientation inverse suggère que des recombinaisons inter chromosomiques devraient produire plus de délétions ou duplications que d'inversions du gène. Une équipe anglaise a d'ailleurs émis l'hypothèse de l'existence réciproque de délétion et de duplication intéressant le gène F8. Plusieurs cas de délétions du gène ou d'une partie du gène ont ainsi été décrits dans des formes sévères. Mais aucune duplication similaire n'a été rapportée en dehors d'une duplication simple de l'exon 13 associée à une forme modérée.

Nous présentons ici une série de patients hémophiles A sévères porteurs de duplications du gène F8. Toutes les duplications identifiées concernent soit la partie centromérique soit la partie télomérique du gène F8. Elles ont toutes été préalablement suspectées devant un profil inhabituel lors de la recherche de l'inversion du gène F8 au niveau de l'intron 22, grâce à la modification de la technique standard par PCR-LR habituellement utilisée par les laboratoires, qui donne un aspect classique faussement positif d'inversion du gène F8. Elles ont été identifiées par MLPA et/ou MP-LC et certaines d'entres elles ont pu être caractérisées par CGH-array. Nous avons ainsi mis en évidence dans la région télomérique en Xq28 une duplication d'environ 0,5Mb dont les points de cassure se situent au niveau de la copie de l'intron 22 et d'une des copies homologues distales du gène F8. Ceci confirme l'hypothèse d'une recombinaison inter chromosomique mettant en jeu ces copies. Cette même duplication vient d'être rapportée dans 3 cas de déficience intellectuelle sans anomalies de la coagulation. Or nous montrons ici que ce type de duplication intéressant le gène F8 est associé i) à une hémophilie isolée, ii) de type sévère, contrairement à l'hypothèse initiale énonçant une absence de sévérité pour les duplications du gène F8 ne justifiant pas d'un diagnostic prénatal.
Ces nouvelles données sont donc importantes à prendre en considération dans le conseil génétique. D'autres investigations sont également nécessaires afin de comprendre pourquoi la duplication d'une même région peut être associée à des phénotypes aussi différents et contradictoires, ceci étant d'autant plus important quand un tel réarrangement est identifié chez une femme enceinte

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P139 - LGMD2L IN FRENCH POPULATION: NEW GENE MUTATIONS AND NEW PHENOTYPES.

N Deburgrave (1), L Orhant (1), C Beugnet (1), M Cossée (1), J Kaplan (2), A Béhin (3), B Eymard (4), P Laforêt (4), T Stojkovic (4), E Salort-Campana (5), I Pénisson (6), G Solé (7), V Tiffreau (8), F Leturcq (1)

1. 1 APHP, Laboratoire de biochimie et génétique moléculaire, GH Cochin, PARIS, France
2. APHP, Laboratoire de biochimie et génétique moléculaire hopital Cochin, GH Cochin, PARIS, France
3. Centre de Référence de Pathologie neuromusculaire Paris Est, Institut de Myologie, GH Pitiés Salpêtrière APHP, PARIS, France
4. Centre de Référence de Pathologie neuromusculaire Paris Est, Institut de Myologie, GH Pitié Salpêtrière APHP, PARIS, France
5. Centre de référence des maladies Neuromusculaires et de la SLA, AP-HM, Marseille, France
6. Centre de référence des maladies Neuromusculaires , département de neurology, CHU, Angers, France
7. centre de référence des maladies Neuromusculaires du Grand Sud Ouest, CHU Bordeaux, Pessac, France
8. Centre de Références des maladies Nueromusculaires, CHU, Lille, France

Recessive mutations in the Anoctamin 5 gene (ANO5), coding for a putative calcium-activated chloride channel, have been recently identified in families with limb girdle muscular dystrophy (LGMD2L), Miyoshi distal myopathy (MMD3) or exercise intolerance. As no testing at the protein level is yet available, molecular genetic testing is necessary to detect affected patients.

We report our findings in a cohort of 115 French patients exhibiting a morbid phenotype compatible with a defect in the ANO5 gene, i.e. patients with distal Miyoshi-like myopathy with normal dysferlin, unexplained LGMD with normal IHC/WB on muscle biopsy, highly elevated CK or pseudometabolic features and high CK. We studied the ANO5 gene by direct sequencing of all exons on gDNA, or cDNA when a biopsy was available. So far, we found 25 muscular dystrophy patients carrying two copies of a variety of mutated alleles. The most common mutation in our study was the previously described founder null mutation c.191 dup A (exon 5), predominant in Northern European patients. It was found on 21 chromosomes out of the 230 tested, 4 patients being homozygous. In addition, we have seen a second group of 20 other different mutations, of which 15 are novel. Altogether, there were 4 nonsense mutations, 18 missense mutations, 3 small out of frame deletions or duplication, 4 splice mutations resulting in out of frame mRNA. In this second group, 3 patients are homozygous. Finally, in our series of 115 patients clinically eligible for an ANO5 defect, 21 % of the chromosome carried a mutant allele. Of the 50 mutations 2/3 were null. Of the 21 different mutations, 15 were previously unpublished. In all cases where the parents were available there was no evidence of de novo mutation. Mutations distribute evenly along the gene without mutational hotspot. Polymorphisms are frequent along the gene and non pathological alternative splicing involving exon 3 and exon 15 to exon 17 is often observed. Search for large rearrangements in the ANO5 gene is under progress.
Our results indicate that the mutation spectrum in the gene is broader than previously believed. The clinical phenotype is heterogeneous and the severity of symptoms varied between patients even with the same mutation, with the serum CK which are always elevated. Three patients presented dilated cardiomyopathy.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P140 - LA MUTATION E1507K DU GENE ABCC8 (SUR1) EST ASSOCIEE A UNE VARIABILITE DES PHENOTYPES ALLANT DE L'HYPOGLYCEMIE NEONATALE AU DIABETE CHEZ L'ADULTE

C Saint-Martin (1), F Baudoux (2), C Vaury (1), D Dobbelaere (3), A Vambergue (2), C Bellanné-Chantelot (1)
1. Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Service de Diabétologie, Hopital C. Huriez, Lille, France
3. Service de pédiatrie, Hopital Jeanne de Flandres, Lille, France

Contexte : Les canaux potassiques ATP-dépendants (canaux KATP) codés par les gènes ABCC8 et KCNJ11 ont un rôle central dans la régulation de la sécrétion d'insuline par les cellules beta-pancréatiques. Un défaut de l'un de ces gènes résulte donc en une hypo ou une hyperglycémie selon qu'il est inhibiteur ou activateur. Les mutations perte de fonction sont responsables de 80% des hyperinsulinismes congénitaux chez le nouveau-né. Récemment quelques mutations transmises sur un mode autosomique dominant comme la mutation d'ABCC8 p.Glu1507Lys (E1507K) ont été associées à des phénotypes variables.
Objectif : Nous décrivons une nouvelle famille française porteuse de la mutation E1507K du gène ABCC8, responsable d'hyperinsulinisme pendant l'enfance puis de dabète à l'âge adulte.
Méthodes : Chaque membre (n=18) a été phénotypé en consultation de diabétologie et a été génotypé pour la mutation E1507K en séquençage direct.
Résultats : 11 sujets (6 femmes et 5 hommes) étaient porteurs de la mutation : 4 enfants dont 2 présentent des hypoglycémies hyperinsulinémiques sensibles au diazoxide et 2 enfants asymptomatiques. Parmi les 7 adultes (5 femmes et 2 hommes), 4 sont diabétiques, 3 intolérants aux hydrates de carbone et toutes les femmes ont présenté un DG.
Conclusion : Cette nouvelle famille confirme l'évolution de la présentation clinique des patients porteurs de la mutation E1507K s'exprimant chez l'enfant par un hyperinsulinisme et chez l'adulte par un phénotype variable allant du diabète gestationnel au diabète de type 2. Ce switch entre hypo et hyperglycémies au cours de la vie est rapporté pour les familles porteuses de la mutation E1507K mais également pour d'autres mutations du gène ABCC8. L'hypothèse proposée est celle d'un épuisement des cellules beta-pancréatiques par hypersécrétion d'insuline et donc d'une apoptose progressive de ces cellules. Ces deux présentations cliniques impliquent que l'identification de diabètes liés à une anomalie du canal potassique KATP nécessite un interrogatoire médical complet des antécédents tant sur le versant hyper- qu'hypoglycémique.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P141 - UNE DUPLICATION ISOLEE DE LA REGION REGULATRICE DU GENE SHOX RESPONSABLE D'UN SYNDROME DE LERI-WEILL

LERI-WEILL SYNDROME CAUSED BY A "PURE" DUPLICATION OF THE REGION DOWNSTREAM THE SHOX GENE

S SCHMITT (1), J ALBUISSON (1), Z ALJATOUNI (2), J FLEURENCE (1), G LANDEAU-TROTTIER (1), M TAUBER (2), S BEZIEAU (1)

1. Service Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. Unité d'Endocrinologie, Maladies Osseuses, Gynécologie et Génétique, Hôpital des Enfants, CHU de Toulouse, Toulouse, France

Le syndrome de Leri-Weill (LWD) [MIM 127300] est une dyschondrostéose caractérisée par une déformation de Madelung associée à une petite taille à prédominance mésomélique. Le retard statural idiopathique (ISS) [MIM 300582] est défini par un retard statural

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P142 - PUCES CGH "A FAÇON" : UN NOUVEL OUTIL DIAGNOSTIQUE POUR LA DETECTION DE GRANDS REARRANGEMENTS DANS DES GENES VARIES.

M COSSEE (1)

1. Laboratoire de biochimie et génétique moléculaire, INSERM U1016, CNRS UMR8104, AP-HP Hôpital Cochin, Université Paris-Descartes Institut Cochin, Paris, France

La fréquence des grands réarrangements associés à une pathologie (Copy number mutations, CNM) varie selon les gènes, et la recherche de ces mutations fait partie intégrante des stratégies diagnostiques des laboratoires de génétique moléculaire. La technologie récente de puces de CGH (Comparative Genomic Hybridization), alliant le principe de l'hybridation génomique comparative et l'utilisation de puces, a fait preuve de sa faisabilité et de sa fiabilité pour la détection de ces grands remaniements. Au cours des dernières années, l'avènement des puces haute densité et la possibilité de choisir des sondes oligonucleotidiques "à façon" ont permis de générer un outil puissant de détection de remaniements à l'échelle des exons et d'apporter une flexibilité grâce à la possibilité de modélisation des puces. L'objectif de notre étude était de tester cette technologie dans un laboratoire de diagnostic analysant des gènes impliqués dans des pathologies génétiques variées, et de la comparer aux stratégies classiques. Après avoir modélisé et testé une puce 4-plex (72k) correspondant à l'analyse 8 gènes, nous avons modélisé une puce 12plex (135k) (Roche-Nimblegen) comportant des sondes oligonucléotidiques exoniques et introniques couvrant 26 gènes testés au laboratoire pour lesquels des CNMs étaient suspectés ou connus. Cette technique est apparue reproductible, fiable et suffisamment sensible pour détecter des délétions à l'état hétérozygote, des duplications d'un seul exon et des mosaïcismes, ainsi que des réarrangements complexes. Elle présente un apport indiscutable par rapport aux techniques classiques en améliorant la fiabilité de détection des CNMs et en permettant de déterminer leurs bornes de façon suffisamment précise pour orienter le séquençage ciblé des points de cassure. La possibilité d'analyse simultanée de plusieurs gènes et son évolutivité « à façon » en font un outil précieux pour une nouvelle approche diagnostique des CNMs. Le séquençage ciblé des points de cassure devrait par ailleurs permettre d'avancer dans la compréhension des mécanismes moléculaires des réarrangements, de rechercher des corrélations phenotype-génotype et d'orienter certaines stratégies thérapeutiques.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P143 - MISE EN PLACE DU DIAGNOSTIC PRE ET POSTNATAL DU SYNDROME DE COCKAYNE A STRASBOURG : VERS UNE MEILLEURE RECONNAISSANCE DE LA MALADIE.

N CALMELS (1), C OBRINGER (2), MC VINCENT (1), M COSSEE (1), C DALLOZ (2), S SAMIMI (1), N DONDAINE (1), G GREFF (1), M ANTIN (1), JL MANDEL (1), A SARASIN (3), H DOLLFUS (2), V LAUGEL (2)

1. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Laboratoire de Génétique Médicale, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Laboratoire Instabilité génétique et cancer, Institut de cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France

Le syndrome de Cockayne est une maladie autosomique récessive principalement caractérisée par un retard staturo-pondéral, une atteinte neurologique et sensorielle et une photosensibilité cutanée. La sévérité et l'âge d'apparition des manifestations sont variables. Cette maladie rare (1/550.000 naissances en France) est liée à des mutations des gènes ERCC6/CSB et ERCC8/CSA, impliqués dans la voie de la réparation de l'ADN par excision de nucléotides (NER). Le diagnostic repose sur un test cellulaire qui consiste à mettre en évidence un défaut spécifique de la voie de réparation liée à la transcription (TCR: transcription coupled repair) en mesurant la synthèse d'ARN dans les fibroblastes en culture après irradiation aux UV.

Le diagnostic du syndrome de Cockayne s'est récemment restructuré en France avec la mise en place en 2004, sous l'égide du GIS-Institut des Maladies Rares, d'un réseau national regroupant des cliniciens et des scientifiques impliqués dans cette pathologie. Ce réseau fondé sur l'expérience pionnière de l'Institut Gustave Roussy, est à l'origine d'un Programme Hospitalier de Recherche Clinique (PHRC) national mené entre 2006 et 2008. Ce travail a ainsi permis une mise à jour épidémiologique, clinique et moléculaire du syndrome de Cockayne.

L'identification de mutations pathogènes dans plusieurs familles de cette cohorte a conduit les patients et leurs apparentés à souhaiter accéder au diagnostic prénatal moléculaire. Ainsi, depuis fin 2006, le laboratoire de diagnostic génétique de Strasbourg a procédé à la confirmation des résultats obtenus au titre de la recherche clinique chez neuf familles et a réalisé six diagnostics prénataux.

Nous mettons aujourd'hui à disposition de l'ensemble des cliniciens le séquençage moléculaire direct des gènes impliqués dans le syndrome de Cockayne au titre du diagnostic.

Bien que le test cellulaire de réparation reste indispensable pour affirmer le diagnostic, l'étude moléculaire permet en effet un conseil génétique précis pour tous les membres de la famille, un diagnostic prénatal plus rapide et plus sûr, voire même un diagnostic préimplantatoire. En complément de l'analyse moléculaire, le test cellulaire visant à mettre en évidence un défaut de la voie de réparation liée à la transcription a été développé au titre de la recherche en marquage non radioactif.

Sur la base de notre expérience et de notre collaboration étroite avec les membres du réseau, nous proposons un arbre décisionnel pour le diagnostic du syndrome de Cockayne. Nous souhaitons que cette offre diagnostique puisse contribuer à une meilleure reconnaissance de ce syndrome très probablement sous diagnostiqué en France, comme en témoigne l'incidence deux fois plus élevée dans d'autres pays européens comme le Royaume-Uni ou les Pays-Bas.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P144 - LOCALISATION DE DEUX REGIONS CONTROLANT L'EXPRESSION DU GENE KAL1 PAR L'ETUDE DE DELETIONS PRESENTES CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DU SYNDROME DE KALLMANN

M COSSEE (1), C DODE (1), C FOUVEAUT (2), JP HARDELIN (3), N LEBRUN (4), C LEROY (2), P Touraine (5), K WAGNER (6)

1. Biochimie et génétique moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France
2. laboratoire de biochimie et génétique moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France
3. département de neurogénétique, Institut Pasteur, Paris, France
4. Département de génétique et développement, Institut Cochin, Paris, France
5. service d'endocrinologie, Groupe hospitalier Pitié Salpétrière, Paris, France
6. service d'endocrinologie, Hôpital l'Archet, Nice, France

Le syndrome de Kallmann-de Morsier associe un hypogonadisme hypogonadotrope et une anosmie (défaut d'odorat). Cette association résulte d'une anomalie de la migration embryonnaire des neurones synthétisant la GnRH consécutive à un défaut de développement du système olfactif périphérique (séquence foetopathologique olfacto-génitale). Une grande hétérogénéité génétique caractérise ce syndrome. A ce jour, 8 gènes responsables ont été identifiés, mais à peine 30% des patients possèdent une mutation dans l'un de ces gènes. Le gène KAL1, responsable de la forme récessive liée au chromosome X, est situé dans la région distale du bras court de ce chromosome (région Xp22.3). Des mutations de KAL1 sont présentes chez environ 8% des patients de sexe masculin. Ce sont principalement des mutations non-sens ou décalant le cadre de lecture, plus rarement des mutations faux-sens. Cependant, 10% des mutations sont des délétions partielles ou totales du gène.

Chez un premier patient, l'impossibilité d'amplifier l'exon 8 par PCR a conduit à l'identification d'une délétion d'environ 2 kb du gène KAL1 par la technique de CGH array. Une RT-PCR sur des ARNm préparés à partir d'une lignée lymphoblastoïde de ce patient a montré l'absence, dans le transcrit KAL1, non seulement de l'exon 8, mais aussi de l'exon 9, malgré la présence de ce dernier dans l'ADN génomique. Actuellement, nous précisons les bornes de la délétion, par PCR sur l'ADN génomique et séquençage du produit d'amplification. Nous rechercherons la présence, dans la région délétée chez ce patient, de séquences introniques conservées dans différentes espèces, afin de tenter de caractériser un site de contrôle de l'épissage de l'exon 9.

Le second patient souffre d'une ichtyose cutanée en plus du syndrome de Kallmann. Dans ce contexte, il s'agit généralement d'un syndrome « de gènes contigus » en rapport avec une délétion chromosomique incluant le gène KAL1 ainsi que le gène STS voisin, qui code pour une stéroïde sulfatase et dont la perte est responsable de l'ichtyose. Nous avons donc recherché une délétion de la région Xp22.3 par CGH array chez ce patient. Nous avons trouvé une délétion de 1,35 Mb, située à 600 kb en 3'du gène KAL1 et contenant les gènes LOC392425, VCX, HDHD1A et STS. Nous avons vérifié, par PCR suivie du séquençage des produits d'amplification, la présence des 14 exons du gène KAL1 et l'absence de mutation ponctuelle dans ces exons. Nous faisons donc l'hypothèse de la présence, au sein du fragment d'ADN délété chez ce patient, d'une région contrôlant la transcription de KAL1.

(les deux premiers auteurs ont contribué de façon équivalente à ce travail)

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P145 - ENFIN UN TEST SIMPLE ET RAPIDE POUR LA DETECTION DES MUTATIONS DU GENE CFTR SPECIFIQUES D'ORIGINES GEOGRAPHIQUES

C Vasseur (1), A LeFloch (2), B Costes (2), A de Becdelièvre (3), T Casals (4), C Costa (2), M Goossens (2), E Girodon (2)
1. UF de Génétique, GH H. Mondor, Créteil, France
2. UF de Génétique, GH H. Mondor, AP-HP, Créteil, France
3. UF de Génétique, GH H. Mondor, AP-HP, Créteil, France
4. Human Molecular Genetics, Group-IDIBELL, Barcelone, Espagne

Près de la moitié des prescriptions d'étude du gène CFTR (impliqué dans la mucoviscidose) concernent des couples avec antécédent familial ou des couples dont le fœtus présente des anomalies digestives à l'échographie du 2e trimestre. Dans ces situations, et selon les recommandations nationales et européennes, la recherche de mutations fréquentes doit tenir compte des origines géographiques, ce qui peut impliquer, en complément de l'utilisation de trousses commerciales, la recherche de mutations spécifiques par séquençage ou balayage d'exons. Cette étape est consommatrice de temps et conduit régulièrement à identifier des mutations dont la pathogénicité n'est pas claire, introduisant de fait des difficultés dans le conseil génétique à donner aux couples.
Nous avons développé des tests ciblés sur les origines pour lesquelles les compléments d'étude à réaliser étaient les plus fréquents au laboratoire : Italie, Espagne, Portugal, Turquie, Afrique du Nord et Afrique noire. Trois à huit mutations sont recherchées, en fonction des origines et des données de la littérature, selon une technologie de discrimination allélique et détection fluorescente (custom TaqMan® SNP genotyping). Des témoins plasmidiques homozygotes et hétérozygotes mutés ont été générés pour toutes les mutations. La validation des tests a été effectuée, sur ces témoins, puis en aveugle sur des échantillons connus et enfin de façon prospective en parallèle du séquençage. Les avantages de ces tests sont importants à plusieurs niveaux : simplicité de mise en œuvre, réduction du temps de travail et des coûts, et facilité d'interprétation. Ce type d'approche peut par ailleurs être facilement appliqué à toute indication de recherche de mutations ciblées.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P146 - SPECTRE DE MUTATION DANS LE GENE DNM2 ET CORRELATION GENOTYPE/PHENOTYPE POUR LES MYOPATHIES CENTRONUCLEAIRES DOMINANTES.

V BIANCALANA (1), J BOHM (2), E DE CHENE (3), M BITOUN (4), C PIERSON (3), E SCHAEFER (5), H KARASOY (6), N DONDAINE (5), C KRETZ (7), N HAUMESSER (7), A TOUSSAINT (7), E ZANOTELI (8), J VISSING (9), N WITTING (9), A ECHANIZ-LAGUNA (10), C WALLGREN-PATTERSSON (11), L MERLINI (12), A OLDFORS (13), L BOMME OUSAGER (14), J MELKI (15), A KRAUSE (16), C JERN (13), A OLIVEIRA (17), F PETIT (18), A JACQUETTE (19), A CHAUSSENOT (20), D MOWAT (21), B LEHEUP (22), M CRISTOFANO (23), R SAEZ VILLAVERDE (24), F MICHEL (25), A FURBY (26), A LOPEZ ARIZTEGUI (27), B DELLE CHIAIE (28), E BERTINI (29), J ANDONI URTIZBEREA (30), V DROUIN-GARRAD (31), F KLEIN (7), JL MANDEL (32), A BEGGS (33), J LAPORTE (2)

1. Dpt of Translational Medecine and Neurogenetics / Laboratoire Diagnostic Génétique, IGBMC, Inserm U964, CNRS UMR 7104, Université de Strasbourg, Collège de France/ Nouvel Hôpital Civil, CHU., Illkirch/ Strasbourg, France
2. Dpt of Translational Medecine and Neurogenetics, IGBMC, Inserm U964, CNRS UMR 7104, Université de Strasbourg, Collège de France, Illkirch, France
3. Division of Genetics and Program Genomics, The Manton Center for Orphan Disease Research, Children's Hospital Boston, Harvard Medical School, Boston, USA
4. Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Nouvel Hôpital Civil, CHRU, Strasbourg, France
6. Department of Neurology, Ege University School of Medicine, Izmir, Turquie
7. Dpt of Translational Medecine and Neurogenetics, IGBMC, Illkirch, France
8. Department of Neurology, Medical School of the University oh Sao Paulo, Sao Paulo, Bresil
9. Department of Neurology, Danish National Hospital, Copenhagen, Danemark
10. Département de Neurologie, Hôpital Hautepierre, CHU, Strasbourg, France
11. The Folkhälsan Institute of Genetics and Department of Medical Genetics, Haartman Institute, University of Helsinki, Helsinki, Finlande
12. Medical Genetics, University of Ferrara, Ferrara, Italie
13. Institute of Biomedecine, Sahlgrenska University Hospital, Göteborg, Suède
14. -, Odense University Hospital, Odense, Danemark
15. -, Hôpital du Kremlin Bicêtre, Paris, France
16. National Health Laboratory Service and School of Pathology, University of the Witwatersrand, Johannesburg, Afrique du sud
17. Department of Neurology, Medical School of the University of Sao Paulo, Sao Paulo, Bresil
18. Service Génétique, CHRU, Lille, France
19. Dpt Génétique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
20. Service de Génétique Médicale, CHU, Nice, France
21. Dpt Medical Genetics, Sydney Children's Hospital, Randwick, Australie
22. Service Génétique Clinique, Hôpitaux Brabois, Vandoeuvre-les-Nancy, France
23. Dpt Neurologie, Azienda ospedaliera Pisana, Pisa, Italie
24. -, Laboratio de Genetica, San Sebastian, Espagne
25. Service Neurologie, CHU, Besançon, France
26. Neurologie, Centre Hospitalier, Saint-Brieuc, France
27. -, Hopital de Cruces, Cruces, Espagne
28. Center for Medical Genetics, University Hospital, Gent, Belgique
29. Department of Laboratory Medicine, Bambino Gesu' Children's Research Hospital, Rome, Italie
30. -, Hôpital Marin, Hendaye, France
31. Service Génétique, Hôpitaux de Rouen, Rouen, France
32. Dpt of Translational Medecine and Neurogenetics, Laboratoire de Diagnostic génétique, IGBMC, CHRU Nouvel Hôpital Civil, Illkirch, Strasbourg, France
33. Division of Genetics and Program Genomics, The Manton Center for Orphan Disease Research, Children's Hospital Boston, Harvard Medical School, Boston, USA

Les myopathies centronucléaires sont un groupe de maladies génétiquement hétérogènes associées avec une faiblesse musculaire, une prédominance avec atrophie des fibres de type I, et des noyaux en position anormalement centrée. La forme autosomique dominante de myopathie centronucléaire est liée au gène GTPase dynamin 2 (DNM2), une enzyme qui régule le cytosquelette et le trafic cellulaire. A ce jour, 40 familles avec des mutations identifiées dans le gène DNM2 ont été décrites et nous en rapportons 45 nouvelles, élargissant le spectre clinique et génétique avec notamment la première mutation d'épissage caractérisée. Les données cliniques,

histologiques et génétiques sont présentées. Les corrélations génotypes-phénotypes dressées d'après les données publiées et les nouvelles données permettent de définir la stratégie la plus efficace pour le screening moléculaire.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P147 - ANALYSE DU GENE POLG : CHEZ QUI ? POUR QUELLES INDICATIONS ?

M Gilleron (1), M Tchikviladze (2), S Filaut (3), N Aoutil (3), T Maisonobe (4), P Laforêt (5), A Lombès (6), C Jardel (3)
1. UF de Biochimie des maladies neurométaboliques- Biochimie Métabolique-, Hôpital Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, Paris, France
2. Fédération de Neurologie, Hôpital Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, Paris, France
3. UF de cardio et myogénétique, Biochimie Métabolique, Hôpital Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, Paris, France
4. neuropathologie, Hôpital Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, Paris, France
5. Centre de Référence de pathologie neuromusculaire Paris-Est, Hôpital Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, Paris, France
6. Inserm, Institut Cochin, Paris, France

Les mutations du gène POLG sont reconnues comme étant les plus fréquentes des causes de maladies métaboliques mitochondriales. La taille du gène (22 exons) impose d'avoir des indications relativement précises pour son analyse. Nous avons tenté de les définir par l'étude rétrospective de 207 patients dont le gène POLG a été séquencé au sein de notre laboratoire. La majorité des demandes d'analyse de POLG provenait de services de neurologie ou neurogénétique, suivie de près par des services de myologie. Les patients étaient essentiellement adultes (plus de 80% des patients âgés de plus de 20 ans et 60% âgés de plus de 50 ans). Les symptômes cliniques d'appel principaux étaient: une neuropathie périphérique, une atteinte cérébelleuse, une atteinte cérébrale, une atteinte hépatique, une atteinte digestive, une atteinte musculaire, ou une combinaison de ces différents signes. Parmi les 207 patients, 54 avaient une maladie liée à une ou deux mutations du gène POLG. Leur âge variait, la proportion la plus importante se trouvant dans la tranche 50-60 ans.
Les signes cliniques les plus informatifs de mutations de POLG apparaissaient être la présence d'une neuropathie périphérique (présente dans plus de 80% des cas), d'une atteinte musculaire (environ 70%), et de troubles oculomoteurs (plus de 60%). A l'inverse, les ophtalmopathies de type cataracte ou rétinopathie, les troubles digestifs et l'épilepsie ne semblent pas être plus fréquentes dans la population avec mutations de POLG.
Parmi les investigations complémentaires,réalisées sur les 152 patients ayant bénéficié d'une biopsie musculaire l'étude de l'histologie musculaire apparaissait particulièrement significative avec 81% de biopsies anormales au sein de la population « POLG muté ». La recherche de délétions multiples de l'ADN mitochondrial musculaire par PCR longue était également intéressante (environ 75% avec une PCR longue anormale). Au contraire l'étude de la chaîne respiratoire mitochondriale n'était pas discriminante puisque 50% des patients avec mutations POLG avaient une chaîne respiratoire normale.
Notre objectif était donc de souligner les éléments clefs pour le diagnostic clinique et biologique. Cette étude devrait permettre de cibler de manière objective les critères principaux d'une demande d'analyse du gène POLG.
mots clés: maladie mitochondriale-diagnostic

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P148 - EVALUATION DU CARACTERE DELETERE DE MUTATIONS DU GENE CODANT LA FERROPORTINE PAR ETUDES FONCTIONNELLES IN VITRO.

L DETIVAUD (1), ML ISLAND (1), AM JOUANOLLE (2), M ROPERT (3), E BARDOU-JACQUET (4), C LE LAN (4), A MOSSER (2), P LEROYER (4), Y DEUGNIER (1), V DAVID (5), P BRISSOT (4), O LOREAL (1)

1. InsermUMR991, Université, Rennes1, RENNES, France
2. Service de Génétique Moléculaire, CHU Pontchaillou, RENNES, France
3. Service de Biochimie, CHU Pontchaillou, RENNES, France
4. Service des Maladies du Foie, CHU Pontchaillou, RENNES, France
5. UMR 6061 CNRS, IGDR, Faculté de Médecine, Université Rennes1, RENNES, France

La ferroportine, protéine membranaire, assure l'export du fer des cellules vers le plasma. L'hepcidine cible la ferroportine, induit sa dégradation, et contrôle ainsi le taux de fer plasmatique. Des mutations du gène codant la ferroportine (SLC40A1) entraînent des surcharges en fer à transmission dominante dont la présentation est classiquement de deux types : i) type A lié à une perte de fonction, et type B lié à une perte de régulation de l'expression du fait d'une insensibilité à l'hepcidine. Il existe une grande hétérogénéité phénotypique.

But: Evaluer le caractère délétère de 6 mutations du gène SLC40A1 récemment identifiées par études fonctionnelles in vitro. Les résultats ont été corrélés aux données biocliniques des patients (Le Lan et al., Gastroenterology, 2011).

Matériel et Méthodes: La protéine ferroportine, sauvage ou mutée, couplée à la green fluorescence protein (GFP) a été exprimée transitoirement dans deux lignées humaines: les cellules rénales embryonnaires HEK293T et les cellules hépatiques HuH7. La localisation cellulaire des protéines sauvage et mutées a été précisée en microscopie confocale. La capacité de ces protéines à contrôler le stock cellulaire en fer a été évaluée en quantifiant la ferritine intracellulaire des cellules exposées ou non à l'hepcidine. Les observations faites ont été comparées à celles obtenues avec les protéines mutantes p.Ala77Asp (A77D) et p.Tyr64Asn (Y64N) utilisées comme contrôles et associées respectivement aux phénotypes A et B.

Résultats: La mutation p.Trp158Leu (W158L) inhibe l'expression de la ferroportine à la membrane cellulaire et ne peut assurer l'export de fer comme décrit dans le type A. Les mutations p.Arg88Gly (R88G) et p.Asn185Asp (N185D) entraînent un défaut d'export du fer et sont classées comme induisant un phénotype A, bien qu'il existe une hétérogénéité des phénotypes présentés par les patients. La mutation p.Gly204Ser (G204S) induit une résistance à l'hepcidine caractéristique du phénotype B. Les études fonctionnelles réalisées pour les mutations p.Arg371Gln (R371Q) et p.Ala69Val (A69V) ne permettent pas de les classer comme responsables de phénotype A ou B.

Conclusion: Ce travail met en évidence 1) l'intérêt des études fonctionnelles pour évaluer les mutations du gène codant la ferroportine 2) l'importance pour le clinicien de rechercher des facteurs confondants exogènes chez un patient présentant une mutation du gène ferroportine.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P149 - A PROPOS DE 4 CAS PORTEURS DE LA MUTATION M.3280A>G DANS LE GENE MT-TL1

M Gilleron (1), S Filaut (2), P Laforêt (3), F Ziegler (4), A Lombès (5), B Eymard (6), C Jardel (2)

1. UF de Biochimie des maladies neurométaboliques- Biochimie Métabolique-, Hôpital Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, Paris, France
2. UF de cardio et myogénétique, Biochimie Métabolique, Hôpital Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, Paris, France
3. Centre de Référence de pathologie neuromusculaire Paris-Est, Hôpital Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, Paris, France
4. neurologie, Hôpital, Montbéliard, France
5. Inserm, Institut Cochin, Paris, France
6. Centre de références des pathologies neuromusculaires Paris Est, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France

Durant les dernières décennies, plusieurs mutations de l'ADN mitochondrial ont été identifiées et ont prouvé être associée à un large éventail de maladies humaines. Parmi les 396 mutations rapportées à ce jour dont 223 sont situées dans les gènes mitochondriaux d'ARNt, seuls 29 ont vu leur rôle pathogène confirmé (www.mitomap.org). Le gène mitochondrial MT-TL1codant pour l'ARN de transfert de la leucine (codon UUR) est connu comme étant un hotspot de mutations avec un large éventail de présentations cliniques allant de CPEO, myopathie, myocardiopathie, diabète à des atteintes neurologiques sévères tels les syndromes de MELAS ou de Leigh, ; dix-sept mutations ont à ce jour été rapportées dans MT-TL1 comme responsables de maladie mitochondriale: le rôle pathogène de certaines d'entre elles (m.3243A> G, m.3271T> C) est certain alors qu'il reste douteux pour d'autres. Nous rapportons ici le cas de 4 patients issus de 2 familles non apparentées porteurs de la mutation m.3280A> G à l'état hétéroplasmique dans MT-TL1. Ils présentaient tous une myopathie lente et progressive depuis l'enfance, une insuffisance cardiaque, une tachycardie, une dyspnée à l'exercice et une hyperlactatémie permanente (lactate dans le sang au repos: 4,8 à 10 mmol / L); un des patients a eu un épisode dramatique de décompensation métabolique, épilepsie et acidose lactique ayant nécessité son hospitalisation en soins intensifs pendant plusieurs semaines

L'aspect morphologique des biopsies musculaires était typique de myopathie mitochondriale avec de nombreuses fibres rouges déchiquetées, le des fibres déficitaires en cytochrome c oxydase et une surcharge modérée en lipides. L'analyse spectrophotométrique des complexes de la chaîne respiratoire montrait une diminution combinée des complexes I, III et IV dépendants de l'ADN mitochondrial.La proportion d'ADN muté était différente dans les différents tissus analysés, élevée dans le muscle (environ 90%) et l'urine (80 à 90%), beaucoup plus faible dans le sang (20 à 70%). De plus il existait une corrélation négative entre le taux de mutation dans le sang et l'âge d'apparition de la maladie.

Ce rapport élargit la description précédente (Campos, 2003) de cette mutation chez un patient atteint de myopathie et de cardimyopathie. Il confirme le statut de mutation pathogène et alerte sur les possibles décompensations sévères dont la survenue demeure inexpliquée.

mots clés: maladie mitochondriale

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P150 - RESULTATS DE 10 ANNEES D'EVALUATIONS DEVELOPPEMENTALES ET COMPORTEMENTALES DE 44 ENFANTS AVEC SYNDROME DE RUBINSTEIN-TAYBI. RESULTS OF 10 YEARS OF DEVELOPMENTAL AND BEHAVIORAL EVALUATIONS OF 44 CHILDREN WITH RUBINSTEIN-TAYBI SYNDROME.

E Taupiac (1), S Fraisse (1), C Galéra (2), E Toussaint (1), MA Delrue (1), B Arveiler (1), D Lacombe (3)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
2. Service de psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent, CHS Charles Perrens, Bordeaux, France
3. Service de génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux, France

Cette étude est le travail de 10 années d'exploration psychologique d'enfants atteints du SRT. Les symptômes sont un retard de développement psychomoteur évoluant vers un déficit mental, un retard de croissance, des critères mineurs de malformations de la face et des extrémités (des pouces et des gros orteils particulièrement larges).

44 enfants ont été évalués à l'aide d'outils standardisés et sont répartis en trois groupes selon leur âge réel.

Pour le groupe de jeunes enfants, le développement psychomoteur se fait de manière linéaire. Le retard est présent dès le plus jeune âge et varie de léger à sévère. Cette évolution se fait de manière progressive. Les performances sont meilleures dans le domaine des modalités sensorielles et de la motricité globale. Ces enfants montrent un intérêt pour l'imitation. Les difficultés sont plus marquées dans les domaines des performances cognitives et verbales.

Chez les 7-11 ans le retard global est également présent et varie de léger à sévère. Les bonnes performances concernent le domaine perceptif. La motricité est investie malgré des difficultés de dextérité. Les activités de coordination oculomanuelle ont été exécutées avec intérêt. Les difficultés sont marquées dans les domaines des productions verbales, de la mémoire, du raisonnement visuo-spatial, perceptif et arithmétique.

Les enfants 12-14 ans ont montré de bonnes réussites dans le domaine de la coordination oculo-manuelle. Les performances perceptives sont également bien développées dans ce groupe. L'imitation est peu exploitée et les difficultés langagières sont parfois sévères. On note également un ralentissement psychomoteur qui perturbe les investigations dans les tâches motrices. Certains enfants accèdent au langage écrit. Le raisonnement mathématique reste difficile.

L'évaluation du comportement socio-adaptatif donne des informations dans les domaines de la communication, l'autonomie, la socialisation et la motricité.

Chez les 2-6 ans, les points forts sont observés aux niveaux des interactions sociales. L'autonomie personnelle est exploitée. Les difficultés sont réelles pour la communication orale alors que la compréhension verbale est mieux développée.

Les 7-11 ans demandent à être de plus en plus autonomes : l'autonomie est d'ailleurs le point fort pour les enfants de ce groupe. Les capacités en motricité sont présentes. Les difficultés sont notées au niveau de la communication et des interactions sociales.

Les 12-16 ans présentent un intérêt pour les interactions sociales ; ils aiment la compagnie, les échanges et la complicité, malgré des difficultés au niveau du langage oral. Ils restent peu autonomes et ont besoin de l'aide d'un adulte pour de nombreux gestes. De nombreux efforts en motricité sont notés malgré une dextérité encore maladroite.

Cette étude a permis l'exploration des capacités des enfants dans de nombreux domaines pour affiner les connaissances du SRT au vu d'une meilleure pise en charge médico-pédagogique.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P151 - LEPRECHAUNISME , PHENOTYPE CLINIQUE ET ASPECTS THERAPEUTIQUES A PROPOS DE 2 CAS

PHENOTYPICAL PRESENTATION AND THERAPY IN TWO CASES WITH LEPRECHAUNISM

D Martin-Coignard (1), M De Kerdanet (2), L Pasquier (3), F Labarthe (4), L Cosson (5), O Lascols (6), C Vigouroux (6)

1. Pôle de Biopathologie centre de compétences maladies rares du développement et syndromes malformatifs, Centre Hospitalier, Le Mans, France
2. Pédiatrie Centre de compétences maladies endocriniennes rares, CHU, Rennes, France
3. Génétique médicale centre de références maladies rares du développement et syndromes malformatifs, CHU, Rennes, France
4. Pédiatrie Centre de compétences maladies héréditaires du métabolisme, CHU, Tours, France
5. Pédiatrie, CHU, Tours, France
6. laboratoire commun de biologie et génétique moléculaire, CHU Saint-Antoine, Paris, France

Le Lepréchaunisme (OMIM246200) est une forme sévère d'insulinorésistance .Il associe un retard de croissance intra utérin ,une dysmorphie caractérisée(rappelant les gnomes du folklore irlandais ou « leprechaun »)une lipoatrophie, un hirsutisme ;chez les petites filles des signes de virilisation et des ovaires polykystiques souvent observés ; biologiquement des variations de la glycémie allant de l'hypo à l'hyper glycémie avec un hyperinsulinisme constant traduisant une insulinorésistance .Au niveau génétique ce syndrome a été rapporté au gène INSR(récepteur à l'insuline) localisé en 19p13.2.

1er cas : 1er enfant, parents cousins germains ,RCIU < au 3ème percentile avec dysmorphie marquée : yeux globuleux , macrostomie , abdomen dilaté, mamelons proéminents , lipoatrophie des membres , hirsutisme ,clitoromégalie et des ovaires polykystiques à l'échographie . L'échographie cardiaque visualise une cardiomyopathie hypertrophique et obstructive majeure . Biologiquement des variations de glycémie de 0,23g/l à 2,86g/l hyperinsulinémie (3500 pmol/l). Le diagnostic de Lepréchaunisme évoqué est confirmé par la caractérisation d'une mutation homozygote du gène INSR(OMIM 147670) c.1611-1G>A dans l'intron 7 ,mutation du site d'épissage en 3'. Un transfert en centre de compétence maladies métaboliques héréditaires du métabolisme de l'enfant (CHU Tours)a été effectué à 1mois . Un traitement par béta-bloquants (3 mg/kg/jour)et un traitement par IGF1 recombinante (insuline growth factor 1) (injections sous-cutanées) est mis en place dont l'efficacité est en cours d'évaluation. Le traitement par rhIGF1-rhBP3(rhIGF1-binding proteine 3 recombinant) (SOMATOKINE)n'étant plus fabriqué , n'a pu être proposé .

2ème cas suivi au CHU de Rennes : fille née en 2003, avec RCIU

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P152 - DIFFERENTIATION OF HUMAN MACROPHAGES IN VITRO WITH ENHANCED ANTIMYCOBACTERIAL ACTIVITY

G VOGT (1), C NATHAN (2)

1. INSERM, Weill Cornell Medical College, New York, USA
2. Department of Microbiology and Immunology, Weill Cornell Medical College, New York, USA

Mycobacterium tuberculosis (M. tuberculosis) causes widespread persistent infection, often residing in macrophages that neither sterilize the bacilli nor allow them to cause disease. How macrophages restrict growth of pathogens is one of many aspects of human phagocyte biology whose study relies largely on macrophages differentiated from monocytes in vitro. However, such cells fail to recapitulate the phenotype of tissue macrophages in key respects, including that they support early, extensive replication of M. tuberculosis and die in several days. Here we found that human macrophages could survive infection, kill M. bovis BCG and severely limit the replication of M. tuberculosis for several weeks if differentiated in 40% human plasma under 5-10% (physiologic) oxygen in the presence of GM-CSF and/or TNFα followed by IFNγ. Control was lost with fetal bovine serum, 20% oxygen, M-CSF, higher concentrations of cytokines or premature exposure to IFNγ. The new culture method will enable inquiries into the antimicrobial mechanisms of human macrophages.

POSTER
1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P153 - HYPERKERATOSE PALMO-PLANTAIRE, RETARD MENTAL ET SPASTICITE CHEZ DEUX DEMI-FRERES MATERNELS : UNE NOUVELLE FORME DE PARAPLEGIE SPASTIQUE LIEE A L'X ?

T Lefebvre (1), C Le Caignec (2), A David (3), B Isidor (1)
1. Service de Génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. Service de Cytogénétique, CHU Nantes, Nantes, France
3. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France

Hyperkératose palmo-plantaire, retard mental et spasticité chez deux demi-frères maternels : une nouvelle forme syndromique de paraplégie spastique liée à l'X ?
Palmo-plantar hyperkeratosis with mental retardation and spastic paraplegia in two maternal half brothers.

Lefebvre T, CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, Nantes, France.
David A, CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, Nantes, France.
Le Caignec C, - CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, Nantes, France.
- INSERM, UMR915, Institut du thorax, Nantes, France.
Isidor B, CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, Nantes, France.

Mots clés :
Hyperkératose palmoplantaire, retard mental, paraplégie spastique, hérédité liée à l'X.

En 1983, Fitzsimmons et al ont décrit une famille avec quatre frères présentant un retard mental modéré à sévère, une paraplégie spastique et une hyperkératose palmo-plantaire avec des degrés de sévérité variables. Nous rapportons ici deux demi-frères de même mère présentant une hyperkératose palmo-plantaire associée à un retard mental léger et un syndrome pyramidal. Les analyses biologiques sanguines et urinaires, ainsi que la CGH array et l'étude de l'ADN mitochondrial sont sans particularité. Ces deux demi-frères semblent présenter une forme modérée de la pathologie décrite chez dans la première famille confirmant ainsi l'existence d'une rare forme syndromique de paraplégie spastique associant retard mental et kératodermie palmo-plantaire ainsi qu'une probable hérédité liée à l'X.

POSTER
1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P154 - BLEPHAROPHIMOSIS, RETARD MENTAL, MALFORMATIONS CONGENITALES CHEZ DEUX FRERES: UNE NOUVELLE FORME SYNDROMIQUE DE BLEPHAROPHIMOSIS ?

T Lefebvre (1), A Chauty (2), O Pichon (3), C Le Caignec (3), A David (4), B Isidor (1)
1. Service de Génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. Néonatologie, CHU Nantes, Nantes, France
3. Service de Cytogénétique, CHU Nantes, Nantes, France
4. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France

Blépharophimosis, retard mental, malformations congénitales chez deux frères: une nouvelle forme syndromique de blépharophimosis ?
Severe blepharophimosis syndrome with mental retardation and congenital malformations in two brothers: a new syndrome?

Lefebvre T, CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, Nantes, France.
Olivier Pichon, Nantes, Service de Cytogénétique, Nantes, France.
Le Caignec C, - CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, Nantes, France.
- INSERM, UMR915, Institut du thorax, Nantes, France.
David A, CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, Nantes, France.
Isidor B, CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, Nantes, France.

Mots-clés :
Blépharophimosis, retard mental, syndrome polymalformatif.

En 1986, Ohdo et al ont décrit deux frères avec une dysmorphie faciale incluant un blépharophimosis et un retard mental. Depuis, plus de 30 cas de blépharophimosis et retard mental (Blepharophimosis and Mental Retardation Syndrome, BMRS) ont été rapportés. En 2006, Verloes et al. les ont classés en 5 sous groupes cliniques. Nous rapportons ici 2 cas supplémentaires. Il s'agit de deux frères issus d'un couple en bonne santé sans lien de parenté connu. Le premier est un fœtus issu d'une IMG à 23 SA pour anasarque, anomalies rénales et anomalies des pieds. Il présentait une dysmorphie faciale avec un hypertélorisme et un blépharophimosis. Le deuxième enfant, décédé à 6 semaines de vie, présentait un retard de croissance intra utérin, une hypotonie, des anomalies rénales et cardiaques, une hypoplasie du corps calleux, des anomalies des extrémités et une dysmorphie faciale avec un blépharophimosis. L'analyse moléculaire par la technique de CGH array est normale chez ces 2 patients. Ces deux frères semblent présenter une nouvelle forme sévère de BMR transmise sur in mode autosomique récessif ou lié à l'X.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P155 - IDENTIFICATION D'UNE DELETION DU DERNIER EXON DU GENE RHD (EXON 10) : IMPLICATION POUR LE GENOTYPAGE RHD FŒTAL NON-INVASIF

Y Fichou (1), JM Chen (1), C Le Maréchal (1), D Jamet (2), I Dupont (2), C Durousseau (3), MJ Loirat (4), C Chuteau (5), P Bailly (3), C Férec (1)

1. Inserm U613, Etablissement Français du Sang, Brest, France
2. Biologie Moléculaire des Groupes Sanguins, Etablissement Français du Sang, Brest, France
3. Laboratoire d'Hématologie Moléculaire, Etablissement Français du Sang, Marseille, France
4. Laboratoire des Bioréactifs - UPR, Etablissement Français du Sang, Nantes, France
5. Qualification Biologique des Dons, Etablissement Français du Sang, Angers, France

Trente groupes sanguins érythrocytaires sont répertoriés à ce jour. Le système Rhésus (Rh) est un système complexe et polymorphe, lié à l'expression des protéines transmembranaires RhD et RhCE à la surface des globules rouges. Ces protéines sont respectivement codées par les deux gènes homologues RHD et RHCE (97% de similarité) comprenant chacun 10 exons. L'antigène RhD a un fort pouvoir immunogène et la connaissance du statut sérologique des individus est extrêmement importante en vue i) d'une application transfusionnelle, afin d'éviter une réaction transfusionnelle hémolytique en cas d'incompatibilité donneur/receveur, ou ii) de la prévention du risque d'immunisation fœto-maternelle chez une femme RHD- porteuse d'un fœtus RHD+. L'analyse sérologique par anticorps monoclonaux est une technique puissante et spécifique, mais dans un certain nombre de cas (0,5-2%) l'interprétation des résultats reste ambiguë et une analyse moléculaire du gène RHD est alors proposée. Depuis une dizaine d'années, notre laboratoire est spécialisé dans la recherche de variants dans le gène RHD, et plus de 2000 échantillons sanguins provenant de plusieurs régions françaises nous ont été adressés pour typage moléculaire par des techniques de D-HPLC et/ou séquençage direct. Chez 56 individus non-apparentés, les méthodes utilisées en routine n'ont pas permis d'amplifier l'exon 10, soit le dernier exon du gène. Par une stratégie basée sur l'amplification par PCR de segments spécifiques du gène RHD autour de l'exon 10, la délétion d'une région commune comprenant 5405 paires de bases a été mise en évidence. La région délétée couvre une large partie 3' de l'intron 9, la totalité de l'exon 10 et la majorité du domaine 3'-UTR du gène. De manière intéressante, les individus présentant ce variant proviennent majoritairement de la région Pays-de-la-Loire (51/56), et le génotypage de microsatellites localisés autour du gène RHD a permis la construction d'un haplotype consensus, suggérant ainsi un effet fondateur dans cette région. L'analyse de la séquence 3' du transcrit, réalisée à partir du sang total de deux individus, a mis en évidence la biosynthèse d'un messager commun constitué d'un exon 9 en amont d'une séquence appelée "pseudo-exon 10" localisée dans l'intron 9, comprenant quatre codons codant les aminoacides Val-Phe-Ile-Glu suivi d'un codon Stop. Par ailleurs, nous avons pu déterminé par cytométrie en flux qu'environ 30 antigènes sont présents à la surface des globules rouges, confirmant ainsi le phénotype "D faible" suspecté après analyse sérologique. En conclusion, bien que le dernier exon du gène soit délété, une quantité significative de protéines est générée et susceptible de déclencher une réponse immunitaire. L'identification de ce variant suggère donc qu'il convient d'adapter la stratégie pour le génotypage non-invasif de RHD fœtal par PCR et d'analyser d'autres exons du gène pour s'assurer de l'absence de risque de générer un produit immunogène.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P156 - CLASSIFICATION DE VARIANTS DE SIGNIFICATION CLINIQUE INCONNUE PAR EVALUATION DE LEUR IMPACT SUR L'EPISSAGE DES ARN PRE-MESSAGERS : EXEMPLE DU GENE CFTR.

C Bareil (1), D Baux (1), M Claustres (2), M des Georges (1), C Raynal (2), AF Roux (1), C Theze (3), S Tuffery-Giraud (3)
1. Laboratoire de Génétique Moléculaire de Maladies Rares, CHRU de Montpellier, Inserm U827, Montpellier, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire de Maladies Rares, CHRU de Montpellier, Inserm U827, Université Montpellier 1, Montpellier, France
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire de Maladies Rares, Université Montpellier 1, Inserm U827, Montpellier, France

L'évolution des techniques de séquençage à haut débit applicables au diagnostic moléculaire des maladies mendéliennes va conduire à l'identification de nombreux variants dont l'effet pathogène ne pourra être déterminé avec certitude. En effet, il est difficile d'établir a priori l'impact de variations introniques, isosémantiques ou faux-sens sur la fonction de la protéine codée et donc leur implication dans la pathologie, ce qui complique considérablement l'interprétation des analyses et le message donné aux patients et à leurs familles. En tant que laboratoire de référence au sein du réseau français de diagnostic moléculaire de la mucoviscidose, nous utilisons des stratégies d'analyse approfondie du gène CFTR afin de résoudre des situations cliniques complexes conduisant également à la mise en évidence de variants de signification clinique inconnue (VSCI). D'après les données répertoriées dans UMD-CFTR (banque de données locus spécifique mise en place grâce à la collaboration de 9 laboratoires français) ces VSCI représenteraient près de 30% des variations de séquence du gène CFTR. Dans ce contexte, nous avons développé un modèle de classification de ces variants sur la base des recommandations internationales (Clinical Molecular Genetics Society, 2007) incluant un ensemble de critères épidémiologiques, familiaux et cliniques ainsi que les résultats de prédictions bioinformatiques et d'études fonctionnelles in vitro. Dans un premier temps, nous avons spécifiquement orienté cette classification vers les variants pouvant avoir un impact sur l'épissage en définissant un ensemble de critères majeurs et mineurs. Ainsi, nous avons étudié 15 VSCI (10 introniques et 5 exoniques) sélectionnés au sein de notre cohorte de patients et attribué des scores aux différents évènements. L'étude fonctionnelle in vitro a été réalisée à l'aide de minigènes rapporteurs d'épissage. Quatre variants introniques et 2 variants exoniques (un isosémantique et un faux-sens) ont été classés comme probablement non pathogènes vis-à-vis de l'épissage et 6 variants introniques et 3 exoniques comme vraisemblablement ou probablement pathogènes vis-à-vis de l'épissage. Des études in silico et fonctionnelles visant à déterminer l'impact du changement d'acide aminé sur la synthèse et/ou la fonction de la protéine CFTR devront être intégrées pour permettre de classer définitivement les variants exoniques n'ayant pas d'effet sur l'épissage. Cette étude préliminaire nous a permis de tester et d'affiner notre modèle qui est en cours de validation sur une large série de variants du gène CFTR. Il pourra à terme constituer un outil d'aide à l'interprétation des variants de signification inconnue dans des situations cliniques complexes. De même il pourrait être adapté à l'interprétation des variants non classés mis en évidence sur d'autres gènes et ainsi permettre une généralisation de son utilisation en pratique diagnostique.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P157 - IMPACT DES MOTIFS CIS-REGULATEURS DES REGIONS NON-CODANTES SUR L'EXPRESSION DU GENE CFTR

M Claustres (1), M Taulan (2), J Varilh (2), V Viart (3)

1. Service de Génétique Moléculaire -CHU Montpellier, Unité INSERM U827, Montpellier France ; Faculté de Médecine, Université Montpellier I, Montpellier, France
2. Unité INSERM U827, Faculté de Médecine, Université Montpellier I, Montpellier, France
3. Unité INSERM U827, Montpellier Frace, Faculté de Médecine, Université Montpellier I, Montpellier, France

Bien que le gène CFTR présente toutes les caractéristiques d'un gène de ménage, il est soumis à une régulation spatio-temporelle fine. En plus d'un certain nombre de motifs régulateurs identifiés au sein du promoteur minimal, ce gène est soumis à une régulation post-transcriptionnelle via des motifs ARE (AU-rich elements) dans sa partie 3'UTR et des sites de fixation pour des microARNs.

Le but de ce travail est d'identifier l'ensemble des motifs fonctionnels impliqués dans le contrôle de l'expression du gène CFTR.

L'utilisation d'outils bioinformatiques nous a permis d'identifier de nouveaux sites potentiellement régulateurs, motifs pour la fixation de facteurs de transcription (TFsearch, Consite…) au niveau du 5'UTR, et de protéines spécifiques (AREsite) et microARNs (TargetScan, miRBase…) au niveau de la région 3' non codante.

Pour évaluer l'importance de chaque motif, nous avons réalisé de nombreuses constructions, contenant ou non des mutants naturels ou expérimentaux. Des expériences de gène rapporteur, quantification des taux de transcrits CFTR, étude de la stabilité de l'ARN…, ont été menées pour tester l'impact de chaque éléments régulateurs.

Par ce travail, nous avons identifié de nouveaux motifs pour la fixation de facteurs de transcription (comme FOX, C/EBP) dans la partie promotrice, ainsi que montré le rôle de certains microARNs (comme miR-101) sur la régulation de l'expression du gène CFTR. Ces motifs cis régulateurs pourraient constituer de nouvelles pistes thérapeutiques afin de moduler la régulation transcriptionnelle et post-transcriptionnelle du gène CFTR.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P158 - WNT10A EST, APRES EDA, LE DEUXIEME GENE LE PLUS FREQUEMMENT IMPLIQUE DANS LES DYSPLASIES ECTODERMIQUES ANHIDROTIQUES ET HYPOHIDROTIQUES.

J Plaisancié (1), V Gaston (2), D Lacombe (3), M Holder (4), C Coubes (5), G Plessis (6), L Olivier-Faivre (7), B Demeer (8), C Vincent-Delorme (9), H Dollfus (10), S Sigaudy (11), E Guillen-Navarro (12), P Calvas (1), N Chassaing (1)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France
2. Service de Génétique Médicale, Hopital Purpan, Toulouse, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
4. Service de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
5. Service de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
6. Département Génétique et Reproduction, CHU Clémenceau, Caen, France
7. Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon, France
8. Génétique Clinique et Oncogénétique, Hôpital Nord, Amiens, France
9. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
10. Service de Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
11. Département de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone, Marseille, France
12. Unidad de Genética Medica, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, Espagne

Les dysplasies ectodermiques anhidrotiques et hypohidrotiques (DEA/H) constituent un groupe de maladies héréditaires caractérisées par des anomalies de développement des dérivés ectodermiques. On retrouve chez ces patients une triade clinique associant hypohidrose, hypotrichose et hypo ou anodontie. L'existence d'un morphotype facial caractéristique est courante. L'hérédité est principalement liée à l'X (gène EDA, 75 % des patients) et plus rarement autosomique récessive ou dominante (gènes EDAR et EDARADD). Des mutations autosomiques récessives et dominantes du gène WNT10A ont récemment été décrites chez des patients atteints de DEA/H à une fréquence identique à celle du gène EDAR.

Nous avons étudié le gène WNT10A et le gène EDAR dans une cohorte de 23 patients atteints de DEA/H pour lesquels aucune mutation ou remaniement génomique n'avait été identifié dans le gène EDA. Cette analyse moléculaire a permis d'identifier des mutations du gène EDAR chez 3 patients et des mutations du gène WNT10A chez 10 patients. Parmi ces 10 patients, 7 étaient homozygotes ou hétérozygotes composites et 3 étaient hétérozygotes. Deux mutations précédemment décrites ont été retrouvées de façon prépondérante : p.Cys107X et p.Phe228Ile. Nous avons également identifié 5 nouvelles mutations : 3 mutations faux-sens, 1 substitution au niveau du codon initiateur et 1 délétion intragénique.

Dans cette cohorte de patients, WNT10A est donc 3 fois plus fréquemment impliqué qu'EDAR dans le phénotype des DEA/H. La majorité des patients de cette cohorte porte 2 mutations dans le gène WNT10A suggérant une transmission autosomique récessive. Cependant la présence d'une mutation hétérozygote dans le gène WNT10A peut entrainer des phénotypes variables, allant de sujets asymptomatiques jusqu'à des DEA/H sévères. Au niveau phénotypique, il semble difficile de distinguer l'implication des différents gènes dans les DEA/H, cependant la prépondérance des anomalies dentaires et l'absence de dysmorphie crânio-faciale pourraient orienter vers le gène WNT10A.

En conclusion, l'analyse moléculaire du gène WNT10A doit faire partie des tests diagnostiques proposés dans les DEA/H. Certains éléments phénotypiques pourraient orienter vers ce gène en première intention.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P159 - SPINAL MUSCULAR ATROPHY CARRIER FREQUENCY AND ESTIMATED PREVALENCE OF THE DISEASE IN MOROCCAN NEWBORNS.

J Lyahyai (1), A Sbiti (2), A Barkat (3), I Ratbi (1), A Sefiani (1)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de médecine et pharmacie, Université Mohamed V Souissi, Rabat, Maroc
2. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
3. Centre National de Référence en Néonatologie et en Nutrition, Hopital d'enfants, Rabat, Maroc

Spinal muscular atrophy (SMA) is one of the most common autosomal recessive diseases caused by homozygous deletion of exon 7 of the survival motor neuron 1 (SMN1) gene in approximately 95% of SMA patients. Carrier frequency studies of SMA have been reported for various populations. The aim of our study was to estimate the carrier frequency of the common SMN1 exon 7 deletion in the Moroccan population to achieve an insight into the prevalence of SMA in Morocco. In this study, we used a reliable quantitative real-time polymerase chain reaction assay with SYBR Green I dye to determine the copy number of the SMN1 gene. Analysis of 150 Moroccan newborns predicts a carrier frequency of approximately 1:25, which would mean a calculated SMA prevalence of 1:1800 after correction due to consanguinity. These results show as expected that the SMA carrier frequency in Morocco is higher than in the European populations and is close to those of Middle Eastern countries. Genetic carrier testing for genetic counseling should be recommended particularly to families with a clear clinical history of SMA.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P160 - DESCRIPTION D'UN CAS FAMILIAL EXCEPTIONNEL DE FIBROELASTOSE PLEURO-PARENCHYMATEUSE IDIOPATHIQUE ET IDENTIFICATION DE DEUX LOCI CANDIDATS PAR CARTOGRAPHIE D'HOMOZYGOTIE PANGENOMIQUE

J Plaisancié (1), H Hamel (2), E Justrabo (3), P Calvas (1), N Chassaing (1), M Koenig (4), E Bieth (1)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France
2. Service de Pneumologie et Réanimation Respiratoire, Hôpital du Bocage, Dijon, France
3. Service d'anatomie et de cytologie pathologiques, CHU, Dijon, France
4. Département Neurobiologie et Génétique, IGBMC, Illkirch, France

La fibroélastose pleuro-parenchymateuse idiopathique (FPPI) est une entité anatomoclinique rare et récemment décrite, dont seuls quelques cas ont été rapportés dans la littérature. Cette entité a été définie à partir de 5 critères : une fibrose intense de la plèvre viscérale à prédominance apicale, une fibroélastose sous-pleurale, le respect du parenchyme à distance de la plèvre, la présence de petits infiltrats lymphoplasmocytaires et la présence foyers fibroblastiques. L'étiologie et la physiopathologie de cette entité sont encore inconnues mais une origine génétique est suspectée par la description de deux cas familiaux.

Nous rapportons ici le cas exceptionnel d'une fratrie, un frère et deux sœurs, nés de parents cousins germains, dont la présentation clinique, radiologique et anatomo-pathologique est compatible avec une FPPI. Les trois membres de cette fratrie ont développé un syndrome restrictif lié à une fibrose pleurale à prédominance apicale et d'évolution sévère ayant conduit au décès prématuré des deux ainés durant la quatrième décade. Les diagnostics différentiels, en particulier l'asbestose, ont été exclus. La similarité du tableau clinique et de l'évolution chez ces trois frères et sœurs doit être soulignée, ce qui, dans le contexte de consanguinité parentale, est fortement suggestif d'une transmission autosomique récessive.

Nous avons identifié par cartographie d'homozygotie pangénomique, deux régions candidates, respectivement sur les chromosomes 5p et 9p, d'une taille totale de 18,57 Mb et incluant 115 gènes. Etant donné la petite taille de la famille, le LOD-score obtenu n'a pas pu atteindre un seuil de 3 (LOD-score à 2,4).

Des analyses utilisant les nouvelles techniques de séquençage haut-débit sont actuellement en cours pour tenter d'identifier les mutations causales de cette maladie rare et sévère.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P161 - INTERPRETATION DE VARIANTS INTRONIQUES ULTRA RARES EN SITUATION DE DIAGNOSTIC PRENATAL: DEUX EXEMPLES CONTRASTES DANS LE GENE MTM1.

N DONDAINE (1), L LAMBERT (2), D GUYOT (3), J VIGNERON (2), C MILER (2), J LAPORTE (4), JL MANDEL (5), V BIANCALANA (6)

1. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Nouvel Hôpital Civil, CHRU, Strasbourg, France
2. Unité fonctionelle de génétique clinique. Médecine néonatale., Maternité Régionale A. Pinard, Nancy, France
3. Service de Réanimation néonatale, C.H.P.F., PAPEETE, France
4. Dpt of Translational Medecine and Neurogenetics, IGBMC, Inserm U964, CNRS UMR 7104, Université de Strasbourg, Collège de France, Illkirch, France
5. Dpt of Translational Medecine and Neurogenetics, Laboratoire de Diagnostic génétique, IGBMC, CHRU Nouvel Hôpital Civil, Illkirch, Strasbourg, France
6. Dpt of Translational Medecine and Neurogenetics / Laboratoire Diagnostic Génétique, IGBMC, Inserm U964, CNRS UMR 7104, Université de Strasbourg, Collège de France/ Nouvel Hôpital Civil, CHU., Illkirch/ Strasbourg, France

Dans le cadre du diagnostic moléculaire par séquençage d'un gène, la mise en évidence d'un variant intronique chez un patient demande des compléments d'explorations afin de définir s'il s'agit d'une mutation ou d'un polymorphisme. L'étude de différentes bases de données permet de rechercher si le variant a déjà été décrit, et si oui, s'il a déjà été déterminé comme pathologique ou pas. L'étude de l'effet sur l'épissage de la variation intronique par des logiciels de prédictions informatiques permet également de prédire si la variation est susceptible de détruire un site d'épissage normal ou d'activer un site cryptique. Un complément d'étude familiale peut également déterminer si la variation est survenue de novo (ce qui est plutôt en faveur d'un effet pathologique) ou si le génotype est présent chez un apparenté sain (ce qui peut prouver l'effet non pathogène en tenant compte de l'éventuelle variabilité du spectre clinique et de l'âge d'apparition de la maladie). Enfin, lorsque cela est possible une étude de l'ARN par RT-PCR et séquençage de l'ADNc peut permettre de mettre en évidence des anomalies de l'épissage associée à la variation. Il n'est finalement pas toujours possible de déterminer avec certitude l'effet pathologique ou pas d'un nouveau variant.

Nous rapportons les cas de deux familles chez lesquelles un garçon est décédé en néonatal dans un contexte de suspicion clinique de myopathie myotubulaire liée au chromosome X. Pour chacune des familles un variant intronique jamais décrit a été mis en évidence dans le gène MTM1, avec une demande de conseil génétique dans le cadre de grossesses en cours pour deux jeunes femmes porteuses des variants. Nous montrons comment les explorations complémentaires ont pu déterminer avec certitude pour l'une des familles un effet pathologique du variant avec possibilité de proposer un diagnostic prénatal, alors que le variant s'est avéré être un polymorphisme ultra rare pour l'autre famille.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P162 - AIDE A L'INTERPRETATION DES MUTATIONS FAUX SENS DU GENE ALK1

S GIRAUD (1), C GRESSIER-AUBOIROUX (2), C VERCHERAT (3), N RICARD (4), B CHAMBE (5), C CHRETIEN (5), H PLAUCHU (6), S BAILLY (7), M CORDIER-BUSSAT (3), A CALENDER (5)

1. Serice de Génétique Moléculaire et Clinique, Hospices civils de Lyon, Hôpital E. Herriot, Lyon, France
2. Service de Génétique moléculaire et Clinique, Hospices civils de Lyon, Hôpital E. Herriot, Lyon, France
3. Inserm UMR-S1052, Centre de Recherche en Cancérologie, Lyon, France
4. INSERM U878, CEA (Commissariat à l'Energie Atomique), iRTSV (Institut de Recherches en Technologies et Sciences pour le Vivant)/LAPV (Laboratoire Angiogenèse et Physiopathologie Vasculaire), Grenoble, France
5. Service de Génétique Moléculaire et Clinique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
6. Service de Génétique et centre de référence sur la maladie de Rendu-Osler, Hospices Civils de Lyon, Hôpital L. Pradel, Lyon, France
7. INSERM U878, CEA (Commissariat à l'Energie Atomique), iRTSV (Institut de Recherches en Technologies et Sciences pour le Vivant)/LAPV (Laboratoire Angiogenèse et Physiopathologie Vasculaire), Grenoble, France

Introduction

La maladie de Rendu-Osler ou HHT (Hereditary Hemorrhagic Telangectasia) est responsable de malformations artério-veineuses et se définit par la présence d'au moins 3 des 4 critères suivants : une transmission héréditaire autosomique dominante, des épistaxis, des télangiectasies cutanéo-muqueuses et des malformations artério-veineuses viscérales. Cette pathologie est principalement causée par des mutations des gènes ENG et ALK1. ALK1 est un récepteur à activité sérine/thréonine kinase, dont le ligand est BMP9.

Dans la database internationale « HHT Mutation database » sur 331 variants différents de ALK1, 149 sont de type faux sens : 124 sont répertoriés comme mutations, 6 comme polymorphismes et 23 de signification inconnue. L'année dernière un test fonctionnel a été développé pour faciliter l'interprétation de ces variants d'ALK1 (N. Ricard 2010).

Au laboratoire nous avons identifié 48 variants faux sens non référencés dans la database et 3 classés de signification inconnue, pour lesquels il est difficile de proposer un dépistage familial fiable.

Matériel et méthodes

Pour ces 51 variants nous avons comparé les données des logiciels de prédiction in silico (Alamut, Polyphen) : suivant la concordance des analyses in silico nous avons classé les variants en probablement pathogène, de signification inconnue ou probablement non pathogène. Des études de coségrégation ont été réalisées quand nous disposions de plusieurs personnes d'une même famille. Nous avons adapté le test fonctionnel dans notre laboratoire. Il est possible de générer des récepteurs mutés sur ALK1 : les mutants pathogènes perdent leur activité de signalisation en réponse à BMP9.

Résultats

Avec les logiciels in silico nous avons classé 29 variants comme probablement pathogène, 14 de signification inconnue et 8 probablement bénins. Les études de ségrégation ont pu être réalisées dans 10 cas, concordants avec les données in silico dans 7 cas, discordant dans 2 cas, non concluant dans 1 cas. Les résultats des tests fonctionnels sont aujourd'hui disponibles pour 14 variants : 12 sont considérés comme pathogènes et deux comme polymorphismes. Les résultats des tests fonctionnels sont concordants avec les données in silico dans 11 cas et affirment le caractère délétère de 3 variants inclassés jusque là.

Conclusion

Un test diagnostique est maintenant disponible pour les nouvelles mutations d'ALK1. Il est relativement coûteux en réactifs et en temps de technicien. Les logiciels in silico peuvent préciser les variants pour lesquels il est important de poursuivre l'analyse par des études de co-

ségrégation ou un test fonctionnel. L'ensemble de cette démarche permettra un meilleur conseil génétique pour les familles.

Reference : Ricard N, Bidart M, et al. Functional analysis of the BMP9 response of ALK1 mutants from HHT2 patients: a diagnostic tool for novel ACVRL1 mutations. Blood, 2010. 116(9): p. 1604-12.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P163 - REARRANGEMENTS GENOMIQUES DANS LES GENES PKD1 ET PKD2 : APPROCHE METHODOLOGIQUE ET FREQUENCE

MP AUDREZET (1), S REDON (1), S MAESTRI (1), C BENECH (1), E CORNEC-LE GALL (2), C FEREC (1)
1. Génétique Moléculaire, CHRU, BREST, France
2. Néphrologie, CHRU, BREST, France

La Polykystose rénale autosomique dominante est une maladie génétique de transmission monogénique fréquente, puisqu'elle touche environ 1 personne sur mille et est responsable de 7% des causes d'insuffisance rénale terminale chez l'adulte.
Deux gènes ont été caractérisés. Le gène PKD1, responsable de 85% des cas est localisé sur le chromosome 16 et code pour la polycystine 1. Le gène PKD2, responsable de 15% des cas, porté par le chromosome 4, code pour la polycystine 2.
L'étude moléculaire de ces gènes est extrêmement délicate, particulièrement pour PKD1 qui compte 46 exons, est très riche en nucléotides G et C, et présente sur les trois quarts de sa séquence, 98% d'homologie avec 6 pseudogènes.
Plus de 400 mutations ont été décrites dans le gène PKD1 et environ 100 dans le gène PKD2, la majorité d'entre elles étant des mutations privées.
L'analyse de ces deux gènes par séquençage direct permet aujourd'hui d'identifier environ 90% des anomalies moléculaires chez les patients atteints, mais ne permet pas l'identification des grands réarrangements dont on sait qu'ils pourraient être responsables de ces allèles non identifiés.
C'est pourquoi nous avons développé une recherche systématique des grandes délétions/duplications par CGH-array pour la partie non dupliquée du gène PKD1 et le gène PKD2 et par PCR quantitative multiplexe pour la partie dupliquée du gène PKD1.
Nous rapportons dans ce travail les résultats de cette recherche sur 70 prélèvements de patients issus de notre cohorte de 650 malades chez lesquels, malgré l'analyse de la totalité de la séquence codante des gènes PKD1 et PKD2, la mutation restait non identifiée.
5 grands réarrangements ont ainsi pu être identifiés : sur le gène PKD1, une première délétion emporte la totalité du gène ainsi qu'une région de 80 kb en amont, deux délétions différentes emportent l'exon 1 et une délétion couvre les exons 35 à 46. Enfin, une grande délétion du gène PKD2 retrouvée chez 8 patients non apparentés emporte les exons 10 à 15. L'analyse plus fine de la zone de cassure par PCR quantitative est en cours afin de permettre la caractérisation complète de ces réarrangements.
Ces résultats illustrent la forte fréquence des grands réarrangements dans les gènes PKD1 et PKD2 et soulignent l'importance de leur recherche systématique dans le diagnostic moléculaire de la polykystose rénale.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P164 - MISE EN EVIDENCE DE FACTEURS GENETIQUES D'EVOLUTION VERS L'INSUFFISANCE RENALE TERMINALE DANS LA POLYKYSTOSE RENALE AUTOSOMIQUE DOMINANTE.

E CORNEC-LE GALL (1), MP AUDREZET (2), P SALIOU (2), Y LE MEUR (1), C FEREC (2)
1. Néphrologie, CHRU, BREST, France
2. Génétique Moléculaire, CHRU, BREST, France

Introduction. La polykystose rénale autosomique dominante (PKAD) est une pathologie dont le phénotype clinique est extrêmement variable, notamment en termes d'âge d'insuffisance rénale terminale (IRT), et de survenue d'anévrysmes intracrâniens (AIC).
L'objectif de ce travail est d'étudier l'influence de facteurs génétiques sur cette variabilité.
Patients et méthodes. Nous avons inclus dans cette étude 409 patients bretons issus de 288 familles. La recherche de mutations ponctuelles est réalisée par séquençage direct après amplification du matériel génomique, et la recherche des grands réarrangements des 2 gènes par PCR quantitative et QMPSF. Nous avons comparé les différents groupes de patients par l'analyse de l'âge médian d'IRT et des courbes de survie rénale par la méthode de Kaplan- Meier. Nous avons comparé les positions médianes de la mutation du gène PKD1 dans les familles chez lesquels un antécédent d'AIC et dans les 186 autres familles par un test de Wilcoxon et les répartitions des types de mutation par un test de Student.
Résultats. Le taux de détection de mutation dans notre cohorte est de 93 %. Parmi les 409 patients, 191 ont atteints le stade IRT, à l'âge moyen de 54 ans, avec une survie rénale significativement meilleure chez les femmes. L'âge médian de l'IRT est de 57.4 ans quand une mutation du gène PKD1 est en cause et de 69.5 ans quand il s'agit du gène PKD2. Au sein des mutations du gène PKD1, les mutations entraînant la synthèse d'une protéine tronquée sont les plus sévères, avec un âge médian d'IRT de 7 ans plus précoce que pour les mutations non troncatives. Nous n'avons pas mis en évidence d'influence du type ou de la localisation des mutations du gène PKD1 sur la survenue d'anévrysmes intracrâniens.
Conclusion. L'influence du type de mutation sur l'âge de survenue de l'IRT est donc importante. A l'aube du développement de thérapies ciblées efficaces, il semble primordial de
déterminer de tels facteurs pronostiques, afin de pouvoir reconnaître les patients les plus à risque de maladie sévère.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P165 - MISE AU POINT D'OUTILS NOVATEURS POUR L'IDENTIFICATION DE MUTATIONS PATHOGENES : LE CAS DES DYSFERLINOPATHIES

V Kergourlay (1), M Krahn (2), G Blandin (1), F Barthélémy (1), M Karow (3), MP Calos (3), C Béroud (1), M Mitchell (1), N Lévy (2), M Bartoli (1)

1. INSERM UMR_910, Aix-Marseille Université, Marseille, France
2. INSERM UMR_910, Département de Génétique Médicale et de Biologie Cellulaire, Aix-Marseille Université, APHM, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France
3. Département de Génétique, Université de Stanford, Stanford, USA

Les dysferlinopathies sont des dystrophies musculaires autosomiques récessives causées par des mutations dans le gène DYSF, qui code la dysferline, protéine impliquée dans l'homéostasie des fibres musculaires. Le diagnostic moléculaire des dysferlinopathies est difficile en raison de la taille du gène DYSF (transcrit de 6,4kb; 55 exons), et de son large spectre mutationnel. En effet plus de 400 variants sont rapportés, dont plus de 30% sont de type faux-sens. L'identification fréquente de nouveaux variants faux-sens en routine diagnostique nous confronte au problème de l'interprétation de l'effet délétère ou non-pathogène. Les outils bioinformatiques prédictifs apportent une aide à l'interprétation. Nous avons développé une base de données mutationnelle et interactive, UMD-DYSF (Universal Mutation Database for dysferlin), qui intègre l'outil UMD-Predictor développé pour l'évaluation du caractère délétère de variants faux-sens. UMD-Predictor présente une très bonne valeur prédictive positive, mais l'information générée reste, comme pour tout outil prédictif informatique, à valider sur le plan fonctionnel. Le but du projet est de développer des outils permettant de vérifier in cellulo la pathogénicité de variants faux-sens identifiés chez des patients et prédits comme pathogènes par UMD-Predictor. Deux stratégies sont développées en parallèle et sont utilisées selon l'implication physiopathologique prédite des variants. La première stratégie consiste à étudier les mutations prédites pour être impliquées dans la stabilité de la protéine, sa localisation, l'interaction avec les protéines partenaires et sa fonctionnalité. Pour cela, nous avons construit un plasmide contenant le cDNA de DYSF sous le contrôle du promoteur endogène. Nous avons ensuite introduit différents types de mutations faux-sens pour les analyses fonctionnelles. La deuxième stratégie développée consiste à étudier l'effet de variants faux-sens au niveau transcriptionnel et protéique. Nous construisons un BAC contenant le locus génomique complet du gène DYSF. En parallèle, des constructions visant à intégrer les mutations sélectionnées sont en cours de production. Le but sera d'y intégrer les mutations à tester, puis de l'incorporer au génome d'IPS murines déficientes en dysferline via le système Cre/loxP. L'analyse de l'effet fonctionnel des variants sera réalisée sur le plan transcriptionnel et protéique. Il est à noter que le système BAC pourra également être utilisé pour étudier l'effet d'autres types de variants, et notamment l'effet de variants introniques sur l'épissage. Nos outils d'analyse fonctionnelle pourront être à terme utilisés en routine, conjointement avec UMD-Predictor, pour l'interprétation des données mutationnelles du gène DYSF. Les données physiopathologiques des mutations testées permettront en retour l'amélioration de l'outil de prédiction. Les résultats obtenus devraient permettre une meilleure compréhension de la physiopathologie des dysferlinopathies.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P166 - DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DU SYNDROME D'ALPORT PAR SEQUENÇAGE HAUT-DEBIT

V Moriniere (1), K Dahan (2), P Hilbert (2), S Pruvost (3), D Goossens (4), F Tores (5), P Nitschke (5), C Bole-Feysot (3), C Antignac (6)

1. Génétique, Hôpital Necker, Paris, France
2. Département de Biologie Moléculaire, Institut de pathologie et Génétique, Gosselies, Belgique
3. Plateforme Génomique de la Fondation Imagine, Hôpital Necker, Paris, France
4. Multiplicom, Multiplicom NV, Niel, Belgique
5. Plateforme Bioinformatique Paris Descartes, Université Paris Descartes, Paris, France
6. Service de Génétique, Hôpital Necker et Inserm U983, Université Paris Descartes, Paris, France

Le syndrome d'Alport (SA) est une affection héréditaire caractérisée par une néphropathie hématurique progressive avec anomalies ultrastructurales des membranes basales (MB) glomérulaires, une surdité de perception, et parfois des anomalies oculaires. C'est une maladie du collagène IV, principal constituant des MB, liée à des mutations dans les gènes codant l'une des trois chaînes, alpha3, 4 ou 5(IV), exprimées dans la MB glomérulaire. Les mutations de COL4A5 sont associées au SA lié à l'X, qui représente 80 à 85% des cas. Les mutations de COL4A3 ou COL4A4 sont associées aux formes autosomiques récessives (AR) ou dominantes (AD). L'étude de l'expression des chaînes de collagène dans les membranes basales cutanées et rénales permet de faire le diagnostic et d'établir le mode de transmission chez la majorité des patients.

Le diagnostic moléculaire reposait jusqu'à maintenant sur une stratégie complexe reposant sur le séquençage progressif des 3 gènes COL4A3-5, guidé par la présentation clinique, les antécédents familiaux et si possible les résultats de la biopsie de peau.

Pour tenter d'accélérer la procédure diagnostique et en diminuer le coût, nous avons utilisé une approche de PCR multiplex (Multiplicom) couplée au séquençage haut débit des produits d'amplification. Nous avons jusqu'à maintenant réalisé une étude pilote dont les résultats s'avèrent extrêmement prometteurs. Cette étude comprenait 14 échantillons contrôles et 34 ADN de patients présentant différentes formes de SA.

Après PCR multiplex (amplification des 149 exons des gènes COL4A3-5 dans 4 tubes), les échantillons ont été étiquetés avec des code-barres et séquencés sur le GS-FLX454 (Roche) ou sur le Solid 4 (Life Technologies). Les variations ont été annotées, analysées et visualisées à l'aide des outils développés au sein de la plateforme bioinformatique de l'Université Paris Descartes (Polyweb). Tous les exons ont été séquencés dans leur totalité avec une couverture d'au moins 60X.

Toutes les mutations des échantillons contrôles ont été identifiées de même que les mutations causales chez 30 des 34 individus testés (soit un taux de détection de 90%), que ce soit des formes liées à l'X (15 patients de sexe masculin), AR (7 cas) ou AD (8 cas). Dans 2 cas de formes AR, les mutations causales n'avaient pas été identifiées lors d'un criblage préalable par SSCP. Dans 2 cas de forme AD, deux mutations ont été identifiées, l'une dans COL4A3 et l'autre dans COL4A4. Tous les types de mutations ponctuelles ont été identifiés dont une délétion hétérozygote de 18 pb.

Dans une nouvelle étude très préliminaire, nous avons reséquencé les produits PCR multiplex de 2 de ces patients sur la puce 314 du séquenceur Ion Torrent PGM (Life Technologies) et avons pu identifier sans difficulté les mutations causales (1 mutation dans COL4A5 et 2 mutations dans COL4A4).

Ces résultats illustrent clairement la faisabilité du diagnostic moléculaire de SA par séquençage haut débit.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P167 - MALADIE DE KRABBE EN FRANCE : 36 ANS DE DIAGNOSTIC (1975-2011)

R Froissart (1), M Piraud (1), MT Vanier (2)

1. Service des Maladies Héréditaires du Métabolisme, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. Service des Maladies Héréditaires du Métabolisme et Fondation Gillet Mérieux, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

La maladie de Krabbe (ou leucodystrophie à cellules globoïdes) est une maladie de surcharge lysosomale de transmission autosomique récessive, due au déficit en galactosylcéramidase qui intervient dans le catabolisme des galactolipides et en particulier du galactosylcéramide, composant majeur de la myéline. La maladie entraîne une démyélinisation du système nerveux central et périphérique. Exceptionnellement, la maladie peut être due au déficit en une protéine activatrice, la saposine A.

Méthodes/Patients. Cette étude regroupe tous les patients diagnostiqués au laboratoire pendant la période 1975-2011, ce qui couvre la plupart des patients diagnostiqués en France. Le diagnostic enzymatique a été réalisé en utilisant le substrat naturel [3H]galactosyl-ceramide jusqu'à fin 2008, et le substrat C8-ß-D-galactosylceramide avec étape finale par spectrométrie de masse en tandem depuis 2007. L'étude du gène GALC (séquençage complet et/ou recherche de la délétion de 30kb incluant les exons 11 à 17) a été réalisée dans environ 60% des familles. Le gène PSAP a été étudié chez un patient présentant un déficit en saposine A.

Résultats. Pendant cette période, 151 patients ont été identifiés dans 139 familles. Un diagnostic prénatal a conduit à identifier 32 fœtus atteints.

La forme infantile classique représente 80% des cas (âge moyen au diagnostic de 7,6 mois); les formes infantile tardive et juvénile représentent 12% des cas (âge au diagnostic entre 2 et 15 ans). La forme adulte représente 8% des cas (âge au diagnostic entre 21 et 73 ans), la plupart des cas ayant été diagnostiqués depuis 1993.

Dans les leucocytes, il existe un net déficit de l'activité galactosylcéramidase chez tous les patients. Le patient présentant un déficit en saposine A a toutefois une activité résiduelle un peu plus élevée (mais normale dans les fibroblastes) et a été trouvé homozygote pour la mutation p.V70del du gène PSAP.

L'étude du gène GALC dans 88 familles a montré la présence de la délétion de 30kb sur 37% des allèles (à l'état homozygote dans 16 familles). Le deuxième allèle le plus fréquent est la mutation p.T529M (environ 8% des allèles).

Parmi les 57 familles explorées au plan moléculaire (séquençage du gène GALC et recherche de la délétion de 30kb), un seul allèle n'a pas été identifié.

En raison de l'existence assez fréquente de pseudodéficit en galactosylcéramidase (dû à certains polymorphismes p.R184C, p.D248N et p.I562T) pouvant rendre l'interprétation difficile, le diagnostic prénatal est de préférence réalisé par étude génétique.

Conclusion. En France, l'incidence de la maladie de Krabbe peut être estimée à environ 1 cas sur 180.000 naissances (ou 1/155.000 en tenant compte des fœtus atteints). La forme adulte est probablement encore sous-diagnostiquée.

Mots clés : maladie de Krabbe, galactosylcéramidase, leucodystrophie, maladie de surcharge lysosomale, gène GALC

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P168 - PRESENTATION D'UNE ETUDE MULTICENTRIQUE PHENOTYPIQUE, GENOTYPIQUE ET PHYSIOPATHOLOGIQUE DES ENCEPHALOPATHIES EPILEPTIQUES PRECOCES.

L Aniksztejn (1), P Cacciagli (2), C Mignon-Ravix (3), M Milh (4), L Villard (4)
1. INSERM U910, INMED, Marseille, France
2. INSERM U910., APHM., Marseille, France
3. INSERM U910., Aix-Marseille université. Faculté de médecine, Marseille, France
4. INSERM U910, Aix-Marseille université. Faculté de médecine, Marseille, France

Etude multicentrique phénotypique, génotypique et physiopathologique des encéphalopathies épileptiques précoces.
Mathieu Milh, Pierre Cacciagli, Cécile Mignon-Ravix, Laurent Aniksztejn et Laurent Villard.
INSERM U910.INSERM U910/INMED
Marseille.

Les encéphalopathies épileptiques précoces (EEP) sont un groupe hétérogène d'épilepsies définies par un âge de début de l'épilepsie avant trois mois, un dysfonctionnement neurologique permanent et une altération de l'électrogenèse se traduisant par un EEG pathologique. Ces épilepsies peuvent être en rapport, soit avec une malformation cérébrale, soit avec une anomalie sur un gène de développement des réseaux neuronaux, dans ce dernier cas l'IRM cérébrale ne montre pas de malformation évidente. Le mode de transimmsion des EEP est inconnu la plupart du temps.
Nous coordonnons un projet de recherche multicentrique portant sur les EEP sans malformation cérébrale, dont les objectifs sont : - de mettre en évidence de nouveaux déterminants génétiques des EEP ; - de préciser les caractéristiques électro-cliniques des patients inclus, - d'étudier la physiopathologie des EEP en utilisant des modèles animaux génétiques et pharmacologiques.
Sur le plan génétique : les gènes déjà connus comme pouvant être associés aux EEP sont tout d'abord étudiés, puis deux approches sont développées en parallèle : étude sans a priori par hybridation génomique comparative à haute résolution (720K) et séquençage de l'exome ; et séquençage directe de gènes candidats, issus des modèles animaux.
Sur le plan électro clinique, les patients inclus de manière prospective ont un suivi régulier, protocolaire.
Sur le plan physiopathologique ; étude des conséquences fonctionnelles des anomalies mises en évidence chez les patients, sur des modèles animaux intégrés, et étude des mécanismes sous-tendant l'électrogènes paroxystiques dans un cerveau immature.
Un peu plus de cent patients ont été inclus ce jour. Quarante trois ont un syndrome d'Ohtahara, 8 une épilepsie myoclonique précoce, 3 une épilepsie avec crises partielles migrantes et 46 ont une EEP inclassable.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P169 - THE UNIVERSAL MUTATION DATABASE FOR DYSFERLIN

G Blandin (1), C Beroud (2), V Labelle (3), K Nguyen (3), N Wein (1), D Hamroun (4), B Williams (5), N Monnier (5), L Rufibach (5), JA Urtizberea (6), P Cau (1), M Bartoli (1), N Lévy (1), M Krahn (1)

1. UMR 910, Aix-Marseille Univ / Inserm, Faculté de Médecine Timone, Marseille, France
2. U827, Université Montpellier 1 / CHU de Montpellier / Inserm, Montpellier, France
3. Département de Génétique Médicale et de Biologie Cellulaire, APHM, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France
4. U827, APHM, Hôpital d'Enfants de la Timone, Montpellier, France
5. Jain Foundation, Jain Foundation, Bellevue, WA, USA
6. APHP, Hôpital Marin, Hendaye, France

The compilation of mutational and clinical data from patients affected with dysferlinopathy is an essential step towards a better understanding of the natural course of this disease, and possible inclusion in future therapeutic clinical trials. As the French national reference centre for molecular diagnosis of primary dysferlinopathies, we developed the Universal Mutation Database for Dysferlin (UMD-DYSF, in collaboration with Christophe Beroud, Montpellier, France). The main objective of this Locus-Specific Database is the compilation and interactive analysis of all pathogenic mutations identified in the dysferlin gene and in patients diagnosed with a dysferlinopathy, specifically.

In its current version (April, 2011), the database includes 742 entries corresponding to 266 different disease-causing mutations identified in 558 patients worldwide, with direct links to the corresponding publications. The database also includes a lot of bioinformatics tools which allow for the statistical analysis of mutational data. Being confronted to the recurrent problematic of interpreting newly identified intronic, missense- or isosemantic-exonic sequence variants, we integrated in UMD-DYSF specific algorithms for the prediction of a pathogenicity score, which makes this database a valuable bioinformatics support for genetic diagnosis in primary dysferlinopathies. The data compiled in UMD-DYSF as well as the different bioinformatics tools are readily available on www.umd.be/DYSF/ to anyone interested in the genetic variations of the dysferlin gene and in their consequences.

Being integrated in the international “Natural History study for Dysferlinopathy”, supported by the Jain Foundation, current developments aim to further expand UMD-DYSF to reach the status of an international patient registry according to the guidelines of TREAT-NMD, including regular updates by patients/physicians on the clinical status of patients with genetically confirmed dysferlinopathy.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P170 - SYNDROME KABUKI ET ANOMALIES CARDIAQUES (A PROPOS D'UN CAS)

KABUKI SYNDROME AND HEART DEFECTS (ABOUT A CASE)

S Nassereddine (1), H Dehbi (2), S Nadifi (1)

1. Laboratoire de Génétique et Pathologie Moléculaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc
2. Laboratoire de Génétique et Pathologie Moléculaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie, casablanca, Maroc

Le syndrome de Kabuki, dit « Kabuki make-up », est un syndrome rare, sa prévalence est estimée à 1/32000 au Japon, Il associe un retard de croissance postnatal progressif , un retard mental léger, une dysmorphie faciale, des anomalies cardiaques et squelettiques et de nombreux autres signes qui ont été décrits de manière inconstante notamment des anomalies cardiaques à type de coarctation aortique et les anomalies du septum auriculaire ou ventriculaire le plus souvent .Plusieurs anomalies chromosomiques et génétiques ont été associées au syndrome est se transmettant selon un mode autosomique dominant. Récemment un nouveaux gène est identifié en rapport avec se syndrome : gène MLL2. Nous rapportant le cas d'une fille âgée de 17 ans dont le tableau clinique est caractéristique du syndrome et chez qui une anomalie cardiaque rare est retrouvée, un ventricule droit à double chambre.

Mots clés : syndrome Kabuki, anomalie cardiaque, ventricule droit à double chambre.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P171 - LES MUTATIONS DU GENE SH3TC2 (CMT4C) SONT FREQUENTES CHEZ LES CAS ISOLES AVEC UN CHARCOT-MARIE-TOOTH DEMYELINISANT

M YGER (1), T STOJKOVIC (1), S TARDIEU (1), T MAISONOBE (2), A BRICE (3), K LARCHER (3), S GIRARD (4), H AZZEDINE (4), C CAZENEUVE (3), O DUBOURG (1), E LEGUERN (3)

1. Centre de référence des maladies neuromusculaires Paris-Est, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Département de neurophysiologie clinique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Département de génétique et cytogénétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. CRICM, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

La maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) est une neuropathie héréditaire qui se caractérise par un déficit et une amyotrophie de la partie distale des membres associés à des troubles sensitifs à tous les modes et de même topographie. Elle provoque des troubles de la marche et des gestes de la vie quotidienne. L'examen électrophysiologique permet de définir les formes démyélinisantes ou neuronales (axonales ou spinales). L'hérédité peut être autosomique dominante ou récessive, ou liée à l'X.

Les formes dominantes du CMT démyélinisant (CMT1) sont les plus fréquentes en Europe et sont majoritairement dues à la duplication de la région 17p11.2 qui contient le gène PMP22 (70% des formes familiales de CMT1), puis aux mutations du gène GBJ1 qui code pour la Connexine 32 (15%). La duplication en 17p11.2 est retrouvée chez 35% des cas isolés avec un CMT1. Chez les cas isolés restants, la fréquence des mutations dans les gènes qui sont explorés en routine au laboratoire de diagnostic, comme GJB1, P0 et PMP22, est inférieure à 10%. Certains de ces patients ont probablement un CMT de transmission autosomique récessive.

Neuf locus différents ont été rapportés pour les formes AR de CMT et 8 gènes ont été identifiés: GDAP1 pour le CMT4A [MIM 606598], MTMR2 pour le CMT4B1 [MIM 603557], MTMR13/ SBF2 pour le CMT4B2 [MIM 607739], SH3TC2 pour le CMT4C [MIM 601596], NDRG1 pour le CMT4D [MIM 605262], EGR2 pour le CMT4E [MIM 129010], PRX pour le CMT4F [MIM 605725], FGD4 pour le CMT4G [MIM 611104]. Bien que le CMT4C ait été une des première forme rapportée, les descriptions cliniques le concernant sont rares et le plus souvent à travers l'étude de petites séries.

L'objectif de cette étude est d'estimer la fréquence des mutations de SH3TC2 chez des patients avec un CMT1 et de préciser le phénotype associé. Après avoir exclu la duplication de PMP22 et les mutations de GJB1, P0 et PMP22 chez 102 patients indépendants avec un CMT1, la séquence codante de SH3TC2 a été systématiquement séquencée.

Seize patients (15%) ont été identifiés avec 2 copies mutées du gène. L'étude clinique a montré que chez 6 d'entre eux, la scoliose était inaugurale. Une atteinte des nerfs crâniens (acoustique, facial, hypoglosse, IX et X) était observée chez 10 patients. De plus, 8 patients avaient une atteinte des muscles proximaux. Enfin, l'examen électrophysiologique montrait la présence de blocks de conduction et une dispersion temporelle qui sont caractéristiques de cette forme de CMT.

Cette étude montre que le gène SH3TC2 est fréquemment muté en France chez les cas isolés avec un CMT démyélinisant et que ces patients ont un profil électrophysiologique caractéristique, qui peut guider le diagnostic moléculaire. SH3TC2 doit faire partie des gènes explorés en routine dans le CMT1.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P172 - NOUVELLE MUTATION DU GENE POLR3A : CONTINUUM CLINIQUE DE TROIS FORMES DE LEUCODYSTROPHIES

O BOESPFLUG-TANGUY (1), E CHOUERY (2), I DORBOZ (3), S GUEDEN (4), A MEGARBANE (5)

1. Assistance Publique des Hôpitauxde Paris (APHP)/INSERM/, Université Paris Diderot/U931/U676/Reference Center for Leukodystrophies, PARIS/ CLERMONT-FERRAND, France
2. INSERM, unité UMR_S 910, Faculté de Médecine, Université Saint-Joseph, BEIRUT, Liban
3. INSERM, U931, Clermont Ferrand/ U676, Paris, PARIS/ CLERMONT-FERRAND, France
4. INSERM, U676, Paris, PARIS, France
5. INSERM, unité UMR_S 910, Faculté de Médecine, Université Saint-Joseph/Institut Jérôme Lejeune, BEIRUT/PARIS, Liban

Le gène POLR3A vient d'être identifié comme étant responsable de trois formes de leucodystrophie(LD) : le syndrome de tremblements-ataxie et hypomyélinisation centrale (TAHC), la leucodystrophie avec oligodontie(LO) et le syndrome 4H (Hypomyélinisation, Hypodontie et Hypogonadisme Hypogonadotropique) . Le gène POLR3A, code pour la plus grande sous-unité de la polymérase III qui synthétise des ARN de transfert, de l'ARN ribosomal 5S et des petits ARN nucléaires, contrôlant de manière indirecte la synthèse protéique. L'expression de POL3RA est ubiquitaire, mais son activité transcriptionnelle dépend du type et du cycle cellulaires. De nombreuses mutations ont déjà été identifiées dans ce gène, aboutissant, chez les sujets mutés, à une diminution de la quantité de POLR3A, notamment au niveau cérébral.

Nous rapportons une famille tunisienne consanguine. Deux des trois enfants, un garçon et une fille présentent une LD hypomyélinisante. A partir de l'âge de 6 ans, sont apparus un syndrome cérébelleux et une régression cognitive. Ils ont tous deux des signes dysmorphiques et un retard de croissance staturo-pondéral mais un seul a des anomalies de l'implantation dentaire. L'IRM cérébrale montre une hypomyélinisation diffuse associée à une atrophie du corps calleux et du cervelet. L'analyse pangénomique par puces de génotypage nous a permis d'identifier une région unique d'homozygotie de 18,6Mb en 10q22-q23 (Lod score =1,93), contenant le gène POLR3A,. Une nouvelle mutation a l'état homozygote c.2011T>C (p.W671R) a été identifiée chez les deux individus malades de cette famille.
Cette famille porteuse d'une nouvelle mutation du gène POLR3A confirme l'hétérogénéité clinique de ces patients dont le point commun est une LD hypomyélinisante.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P173 - BILAN ET RESULTATS RECENTS DE LA NOUVELLE APPROCHE DIAGNOSTIQUE DE LA DYSTROPHIE FACIO-SCAPULO-HUMERALE PAR LA TECHNIQUE DU PEIGNAGE MOLECULAIRE.
MOLECULAR COMBING-BASED DIAGNOSIS OF FACIO-SCAPULO-HUMERAL DYSTROPHY: UPDATE AND NEW FINDINGS.

K Nguyen (1), P Walrafen (2), C Chaix (1), R Bernard (1), C Vo Van (3), E Renard (2), C Pécheux (3), S Attarian (4), A Bensimon (2), N Lévy (1)

1. Département de génétique médicale/INSERM UMR S_910, CHU Timone enfants/ faculté de médecine, Marseille, France
2. Genomic Vision, Green Square, Bagneux, France
3. Département de génétique médicale, CHU Timone enfants, Marseille, France
4. Centre de référence pour la prise en charge des maladies neuromusculaires, CHU Timone adultes, Marseille, France

La dystrophie facio-scapulo-humérale (FSHD) est associée à une combinaison d'anomalies génomiques dans la région subtélomérique 4q35, incluant une contraction hétérozygote d'un élément répété D4Z4 associée en cis à un polymorphisme de séquence distal 4qA. Les contractions de type 4qB et les contractions en 10q26, région de très forte homologie à 4q35, ne sont pas pathogènes. Le diagnostic moléculaire de la FSHD, dans tous les laboratoires qui le pratiquent, repose sur la technique du Southern blot qui permet de déterminer la taille de D4Z4 en 4q35 et le polymorphisme 4qA. Les inconvénients majeurs de cette technique, en particulier le manque de sensibilité pour la détection des variants génomiques nombreux tels les translocations 4/10, les contractions non canoniques et les mosaïques somatiques, nous ont incité à développer une approche alternative basée sur la technologie du peignage moléculaire. Le peignage consiste à individualiser, étirer et fixer sur des lames des molécules d'ADN génomique. L'hybridation de sondes fluorescentes spécifiques permet de visualiser directement et à très haute résolution le locus FSHD. Les haplotypes 4qA porteurs d'une contraction sont identifiés et distingués des haplotypes 10q ou 4qB non pathogènes. Cette nouvelle technique a été validée (Nguyen et al, 2011) et s'implante peu à peu dans les laboratoires de diagnostic au niveau mondial. Nous présentons ici l'état des lieux du diagnostic de la FSHD en peignage moléculaire. Nous avons amélioré le code barre génomique par rapport au test prototype présenté en 2010, avec une version V3 simplifiée à 3 couleurs. Sur 100 patients testés, nous mis en évidence un haplotype 4qA contracté dans environ la moitié des cas. En particulier, dans les cas de translocations 4-10 suspectées en Southern blot, le peignage moléculaire permet d'identifier les haplotypes 4qter et 10qter de façon non équivoque. 12 patients sont porteurs de variants génomiques avec 5 allèles, l'allèle supplémentaire étant un allèle 4qA contracté en mosaïque somatique chez 5 patients. Dans 2 familles, un remaniement impliquant le chromosome 10qter a été mis en évidence, faisant apparaitre en peignage 3 allèles originaires du chromosome 10qter qui ne ségrégent pas avec la maladie. Chez une patiente chez qui l'analyse en Southern blot n'avait pas montré d'allèle contracté, nous avons mis en évidence une contraction de D4Z4 qui emporte la région de la sonde p13E-11 et pu ainsi rectifier le diagnostic. Plusieurs patients présentent des remaniements intra-locus soit 4qter soit en 10qter, dont certains correspondraient à des réarrangements complexes de la région à type de duplication. Enfin, nous avons réalisé 7 diagnostics prénataux de FSHD sur une culture cellulaire de trophoblaste (4) ou liquide amniotique (3), dont 2 diagnostics positifs et 5 résultats normaux, ce qui montre la faisabilité du diagnostic anténatal de FSHD par la technique du peignage moléculaire.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P174 - PLACE DES CNV DANS L'ETIOLOGIE DES RETARDS MENTAUX LIES AU CHROMOSOME X

C Mignon Ravix (1), T Busa (2), P Cacciagli (3), S Sigaudy (4), C Popovici (5), A Moncla (6), L Villard (3), N Philip (7)

1. INSERM U910, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France
2. Centre de Référence Anomalies du Développement, Hôpital d'Enfant s de la Timone, Marseille, France
3. INSERMU910, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France
4. Centre de référence Anomalies du Développement. Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France
5. Laboratoire de Cytogénétique. Département de Génétique médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France
6. Laboratoire de Cytogénétique; Département de Génétique médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France
7. Centre de Référence Anomalies du Développement. Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France

Nous avons recherché la présence de variations du nombre de copies (ou CNV pour copy number variants) par la technique d'hybridation génomique comparative sur microréseaux d'ADN (CGH-array) sur une série de 33 familles dont la distribution familiale était compatible avec une hérédité récessive liée au chromosome X. Nous avons utilisé une puce commerciale Nimblegen 720K spécifique du chromosome X avec 1 sonde toutes les 70 bp dans les régions géniques et une sonde tous les 30kb dans les régions intergéniques. Comme pour les CNV autosomiques, l'interprétation est parfois difficile d'autant que caractère hérité du remaniement est compatible avec sa pathogénicité puisque les femmes hétérozygotes peuvent être asymptomatiques. Les délétions sont toujours causales si elles contiennent un gène impliqué dans un retard mental lié au chromosome X. Par contre, les duplications sont d'interprétation plus difficile. Les 33 familles sélectionnées comportaient plusieurs garçons atteints. Les familles avec un diagnostic syndromique confirmé par une analyse moléculaire n'ont pas été incluses. Dans neuf cas ces individus appartenaient à plusieurs générations ; deux fois il s'agissait de paires de demi-frères maternels ; les familles restantes comportaient deux (ou plus) frères atteints. L'inactivation du chromosome X maternel a été étudiée 10 fois: inactivation aléatoire : 6 cas ; biais partiel d'inactivation : 2 cas ; biais total : 2 cas. Dans 4 familles (12%) nous avons identifié un CNV contenant un/des gènes connus pour être impliqués dans des retards mentaux. Trois CNV de grande taille étaient déjà décrits dans des familles de RMLX : une duplication Xq28 contenant le gène MeCP2 ; une délétion X q27.2-q28 contenant le gène FMR1 dans une famille comportant deux individus atteints sur 2 générations ; une duplication Xq28 contenant le gène FMR1 dans une famille comportant 4 individus atteints. Le quatrième remaniement était une délétion de trois exons du gène IL1RAPL, dans une famille comportant 3 individus atteints sur deux générations avec présence d'un biais total d'inactivation de l'X chez la mère du propositus. Deux CNV non décrits n'ont pu être interprétés du fait de l'impossibilité d'une enquête familiale : une délétion d'un ARN non–codant en Xq13.2; une duplication Xq23 concernant le dernier exon du gène LUZP4. Une délétion de 1,8Kb en X dans une région ne contenant aucun gène retrouvée chez deux frères n'a pas été retenue comme causale. Au total, cette stratégie s'est révélée peu efficace dans la mesure où trois des CNV pathogènes étaient déjà identifiables sur une puce 180K utilisée en routine pour le diagnostic. Le séquençage systématique de l'exome du chromosome X, qui permet aussi l'identification des petites délétions, comme celle du gène IL1RAPL apparait donc comme la technique de choix pour améliorer le rendement diagnostique dans les retards mentaux lié au chromosome X. Cette étude est en cours pour quelques familles.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P175 - UN DEFAUT DANS LA VOIE DE SYNTHESE DES GANGLIOSIDES IDENTIFIE PAR SEQUENÇAGE D'EXOME ET REVELE PAR UN DEFICIT DE LA CHAINE RESPIRATOIRE

*K * Fragaki (1), S * Ait-El-Mkadem (1), A Chaussenot (2), C Gire (3), R Mengual (4), M Bénéteau (5), JE Ricci (5), D Figarella-Branger (6), V Paquis-Flucklinger (1)*

1. Service de Génétique Moléculaire, Centre de Référence des Maladies Mitochondriales Sud-Mediterranée - LBPG CNRS UMR 6267 - INSERM U998 - UNSA, CHU de Nice, Nice, France
2. Service de Génétique Moléculaire, Centre de Référence des Maladies Mitochondriales Sud-Mediterranée, CHU de Nice, Nice, France
3. Service de Pédiatrie-Néonatologie, Hôpital Nord, Université de la Méditerranée, Marseille, France
4. Service de Biochimie, CHU de Nice, Nice, France
5. INSERM, U895, Centre Méditerranéen de Médecine Moléculaire (C3M), Nice, France
6. Service d'Anatomie Pathologique et de Neuropathologie, Hôpital de la Timone, Marseille, France

* : Ces deux auteurs ont contribué à parts égales à ce travail

Nous avons analysé une famille consanguine dans laquelle, au sein d'une fratrie de 4 garçons, 2 enfants avaient une atteinte neurologique très sévère alors que 2 autres étaient indemnes. Les patients ont présenté dès les premiers mois de vie une hypotonie généralisée avec un retard des acquisitions, et des difficultés d'alimentation ayant entraîné une cassure de la courbe staturo-pondérale à 6 mois. Ils ont débuté une épilepsie myoclonique pharmacorésistante à l'âge de 9 mois, suivie de l'apparition de mouvements anormaux de type choréique chez l'aîné. Une atteinte hépatique était également présente et une pose de gastrostomie a été nécessaire devant un retard staturo-pondéral sévère. Les IRM cérébrales montraient une atteinte de la substance blanche diffuse évolutive. L'ensemble du bilan métabolique étiologique était négatif. La symptomatologie clinique et la présence d'une accumulation de lipides sur la biopsie musculaire ont fait suspecter un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale, objectivé par spectrophotométrie sur prélèvement hépatique et par polarographie sur fibroblastes. Une analyse par « homozygosity mapping » a permis d'identifier une région candidate de 27Mb qui incluait plus de 100 gènes potentiellement candidats. Une approche complémentaire par séquençage d'exome chez un des enfants atteints a permis d'identifier une mutation non sens homozygote dans un gène codant pour une enzyme impliquée dans la voie de synthèse des gangliosides. La pathogénicité de cette mutation a été confirmée par l'analyse de la ségrégation familiale. Les gangliosides, particulièrement abondants dans les cellules du système nerveux central, ont un rôle majeur au cours du développement et dans la prolifération et la différenciation cellulaire. A ce jour, seules 3 enzymes impliquées dans la synthèse de novo des glycosphingolipides ont été associées à des pathologies humaines mais sans aucune relation décrite avec une atteinte mitochondriale. L'analyse des fibroblastes des enfants atteints est en cours et vise à confirmer l'hypothèse selon laquelle une accumulation de précurseurs des gangliosides complexes in vivo peut être à l'origine d'un défaut de la chaîne respiratoire mitochondriale avec augmentation des ROS et de l'apoptose et modification de la perméabilité membranaire. Par ailleurs, cette observation confirme la place des déficits de la chaîne respiratoire secondaires à d'autres erreurs du métabolisme.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P176 - IDENTIFICATION DE GENES DE RETARD MENTAL GRACE A LA CGH ARRAY

C Missirian (1), C Popovici (2), S Sigaudy (3), T Busa (4), E Consolino (5), M Dampierre (5), N Philip (5), A Moncla (6)

1. Laboratoire de de Cytogénétique. Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France
2. Laboratoire de Cytogénétique. Département de Génétique médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France
3. Centre de référence Anomalies du Développement. Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France
4. Centre de Référence Anomalies du Développement, Hôpital d'Enfant s de la Timone, Marseille, France
5. Centre de Référence Anomalies du Développement. Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France
6. Laboratoire de Cytogénétique; Département de Génétique médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France

Ces dernières années ont vu des progrès considérables dans l'identification des gènes impliqués dans le retard mental. La plupart des gènes dont les mutations sont responsables retards mentaux monogéniques « syndromiques » ont été identifiés. A côté de ces syndromes définis, la majorité des patients qui présentent un retard mental ont trop peu de signes spécifiques associés pour définir une entité syndromique et sont donc, décrits comme des retards mentaux non syndromiques, sans possibilité de constituer des groupes homogènes de patients pour des approches de type « exome ». A partir de quatre observations, nous voudrions démontrer que l'hybridation génomique comparative sur puces à ADN (CGH-array) apporte une contribution significative à l'identification de l'étiologie des retards mentaux non syndromiques.

La première observation est celle d'un enfant présentant un retard mental modéré avec une fente labio-palatine unilatérale et des anomalies dentaires à type de double rangée d'insicives. L'analyse en CGH a permis d'identifier une délétion de 80 kb en 2q33.1 contenant un seul gène, SATB2 (SATB homeobox 2). Deux mutations ponctuelles de ce gène ont été rapportées dans un article de la littérature (Leoyklang et al Hum Mut, 2007) L'enquête familiale a confirmé le caractère de novo de cette microdélétion.

La deuxième observation concerne un enfant présentant un retard mental sévère avec des troubles du comportement. Sur le plan physique, il présentait une exostose. Nous avons identifié une délétion de 920 kb localisée dans la région 8q24.11. Cette délétion contient deux gènes : EXT1, gène dont les mutations sont impliquées dans la maladie des exostoses multiples et le gène contigu MED30. Ce gène code pour une sous-unité du complexe Madiator, impliqué dans la régulation de la transcription, complexe auquel appartiennent aussi MED12et MED23, codés par le gène MED12 et MED23 dont les mutations sont responsables de retards mentaux syndromiques. L'enquête familiale a confirmé le caractère de novo de cette microdélétion.

Le troisième patient présente une encéphalopathie sévère et précoce Rett-Like. Nous avons identifié une délétion de 800 kb en 14q12 emportant plusieurs exons du gène PRKD1 codant pour une sérine-thréonine kinase. Une seule observation dans la littérature (Papa et al, Am J Med Genet, 2008) rapporte un patient avec un phénotype similaire mais avec une délétion de deux gènes contigus FOXG1B, annoncé comme gène candidat et PRKD1. Notre observation est en faveur du rôle de la délétion de PRKD1 dans le retard mental.

La dernière observation est celle d'un patient présentant un retard mental sévère avec traits autistique chez lequel nous avons identifié une duplication intragénique du gène IQSEC2 localisé en Xp11.2. Son phénotype est similaire aux quatre cas familiaux avec mutation ponctuelle déja rapportés (Shoulbridge et al, Nat Genet, 2010).

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P177 - LES COMPLICATIONS CARDIAQUES SONT UN FACTEUR MAJEUR DE COMORBIDITE ET MORTALITE DANS LES PATIENTS PORTEURS DE LA MUTATION 'MELAS' MT-TL1 3243A>G

E Malfatti (1), A Behin (2), D Duboc (3), B Eymard (2), C Jardel (4), P Laforêt (5), I Lemière (6), A Lombès (7), C Meune (3), T Stojkovic (8), K Wahbi (9)

1. 1. Unité de Morphologie Neuromusculaire, Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Centre de référence des maladies neuromusculaires Paris-Est, 2. AP-HP, Groupe Hospitalier-Universitaire Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Département de Cardiologie, Hôpital Cochin, Paris, France
4. 4. UF de Cardio et Myogénétique- Biochimie Métabolique-, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
5. Centre de référence des maladies neuromusculaires Paris-Est, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
6. 4. UF de Cardio et Myogénétique- Biochimie Métabolique-, Hôpital Pitié Salpêtrière APHP Paris, Paris, France
7. INSERM, U975, Hôpital Cochin, Paris, France
8. Centre de référence des maladies neuromusculaires Paris-Est, 2. AP-HP, Groupe Hospitalier-Universitaire Pitié-Salpêtrière, Paris, France
9. Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Introduction: La mutation m. 3243A>G dans le gène MT-TL1 de l'ADN mitochondrial (mutation MELAS) est associée à une grande variabilité phénotypique. Une atteinte cardiaque est fréquemment observée mais les conséquences sur le pronostic à long terme est mal connue.
Objectifs: Déterminer l'incidence des complications cardiaques et les décès d'origine cardiaque chez les patients porteurs de la mutation 3243A>G de l'ADN mitochondrial dans le gène MT-TL1.
Méthodes: Nous avons étudié rétrospectivement une cohorte de 41 patients (âge médian=47 ans, 13 hommes) porteurs de la mutation m.3243A>G. Nous avons recueilli les données relatives à leur première évaluation dans notre service qui comprenait des consultations neurologique et cardiologique, un électrocardiographie (ECG), une échocardiographie et un Holter ECG. La survenue de complications cardiaques au cours du suivi a été effectuée lors des évaluations neurologique et cardiologique programmées une fois par an et, pour les perdus de vue, les évènements cardiologiques et causes de décès ont été déterminés en contactant les médecins traitants et les mairies de naissance.
Résultats: Lors de leur première évaluation 3 patients présentaient des antécédents d'épisodes « stroke-like », 2 de syndrome coronarien aigu, et un de transplantation cardiaque. L'ECG a montré un syndrome de Wolff Parkinson White dans 7 cas, et le Holter-ECG a révélé une fibrillation auriculaire dans un cas. L'échocardiographie a montré une hypertrophie ventriculaire gauche (VG) dans 16 cas, dont 6 avec une dysfonction VG associée.
Au cours d'un suivi médian de 5 ans, 11 patients (27%) sont décédés, dont 3 pour insuffisance cardiaque, 3 pour une cause neurologique et 5 de causes variées (insuffisance respiratoire aigue, pneumopathie, syndrome occlusif, cancer bronchique, inconnu) et 7 patients ont présenté des complications cardiaques graves dont 6 hospitalisations pour insuffisance cardiaque et un arrêt cardiaque récupéré. L'analyse statistique multi-variée a montré que le seul paramètre associé avec la survenue d'un décès ou d'une complication cardiaque grave était une hypertrophie VG.
Conclusion: Cette étude montre que l'atteinte cardiaque constitue une complication majeure des maladies mitochondriales associées à la mutation MELAS. L'existence d'une hypertrophie ventriculaire gauche se révèle être le principal facteur pronostic de complication cardiaque dans notre population.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P178 - FORME NEUROLOGIQUE DE MALADIE DE WILSON CHEZ UN PATIENT HOMOZYGOTE POUR UNE TRES LONGUE DELETION (34380 PB) DE L'ATP7B EMPORTANT L'EXON 2

G Morineau (1), C Collet (2), J Callebert (1), S Léandre (3), JM Trocello (4), F Woimant (5), PC Chappuis (3)

1. Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France
2. Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France
3. Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France
4. CNR Wilson, Hôpitakl Lariboisière, Paris, France
5. CNR Wilson, Hôpital Lariboisière, Paris, France

La maladie de Wilson est une génopathie autosomale récessive entrainant l'accumulation de cuivre dans certains tissus avec manifestations pathologiques hépatiques, neurologiques ou psychiatriques.

Elle résulte de l'altération de la protéine ATP7B qui transporte le cuivre hépatocytaire vers la céruloplasmine pour excrétion et élimination.

Le diagnostic orienté par les signes cliniques, d'imagerie ou biologiques (céruloplasminémie, cuivre sanguin, urinaire ou hépatique), est idéalement confirmé par l'analyse du gène de l'ATP7B comportant 21 exons.

Plus de 500 mutations responsables sont décrites dans la littérature; essentiellement des mutations ponctuelles ou de petites insertions ou délétions affectant la séquence codante ou les sites d'épissage. Précédemment, un seul cas de grande délétion (2144bp couvrant l'exon 20) a été rapporté. C'était un jeune patient (10 ans) présentant une forme hépatique de maladie sans manifestations neurologiques.

Nous rapportons ici le cas d'une autre grande délétion affectant cette fois l'extrémité N-terminale de la protéine et se traduisant par une forme neurologique et d'expression relativement précoce (19 ans), retrouvée chez un patient originaire du Zaïre né de parents consanguins. Le sujet présentait des signes caractéristiques (anneau de Kayser-Fleischer, troubles comportementaux et de l'équilibre, asthénie, dysarthrie, hypersignaux IRM prédominants au cervelet, céruloplasminémie effondrée (0.02g/L: N=0.20-0.50), cuivre sanguin bas (0.73µmol/L: N=12.7-22.2) et Cu urinaire augmenté (2.2 µmol/L: N=0.07-0.80), foie discrètement hétérogène à l'échographie.

L'analyse par séquençage et dHPLC des 21 exons et des jonctions intron-exon après PCR ne montrait pas d'anomalie sauf pour l'exon 2, impossible à amplifier.

A partir sur sang total, une extraction d'ARNm suivie de RT-PCR fournissait un cDNA aberrant dépourvu d'exon 2.

Une longue PCR avec amorces en début d'intron 1 et fin d'intron 2 amplifiait un fragment ~6.5Kb au lieu des 40.8Kb (séquence normale). Le séquençage précisait la délétion notée c.[51+4615_1286-1244del34380] (ATP 7B, NC 000013.9). En conclusion :

Le père du sujet ainsi que 2 de ses 4 demi-frères et sœurs étaient hétérozygotes pour cette grande délétion, très inhabituelle pour la maladie de Wilson. Celle-ci était systématiquement associée avec un SNP c.1286-667A>G, non retrouvé sur 60 allèles normaux ni chez 30 Wilsoniens sans anomalie génétique décelée.

Une analyse d'ARNm de l'ATP7B est possible à partir du sang périphérique, en accord avec une récente publication.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P179 - PREMIERES MUTATIONS FAUX SENS DE ZEB2 : PHENOTYPE MODERE DE SYNDROME DE MOWAT-WILSON

J Ghoumid (1), B Briand-Suleau (1), L Drévillon (1), L Goodwin (2), P Raymond (1), N Bondurand (3), J Amiel (4), M Goossens (1), S Lyonnet (4), D Mowat (2), I Giurgea (1)

1. Service de biochimie et génétique - INSERM U955 IMRB équipe 11, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
2. Department of Clinical Genetics, Nepean Hospital, Sydney, Australie
3. INSERM U955 IMRB équipe 11, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
4. Département de Génétique - INSERM U-781, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France

Le syndrome de Mowat-Wilson (SMW) est une affection congénitale caractérisée par un retard mental sévère, des anomalies cérébrales, cardiaques, rénales et une maladie de Hirschsprung. Les patients ont une dysmorphie faciale spécifique avec un front haut, de grands sourcils fournis, un hypertélorisme, de grands lobes d'oreilles remontés avec une dépression centrale et un menton proéminent. Les anomalies moléculaires décrites dans le gène responsable, ZEB2 (ou ZFHX1B) sont de mutations tronquantes ou de délétions, survenant de novo, à l'état hétérozygote. ZEB2 code un facteur de transcription exprimé tôt au cours du développement embryonnaire. Cette protéine possède des motifs de liaison à l'ADN de type doigts de zinc, permettant une reconnaissance spécifique de ses cibles transcriptionnelles, dont la plus connue est l'E-cadhérine.

Dans cette étude nous décrivons les premières mutations faux-sens de ZEB2, leurs conséquences fonctionnelles in vitro, et nous détaillons le phénotype des patients porteurs.

Les deux mutations faux-sens (p.Ser1071Pro et p.Tyr1055Cys) se situent dans le dernier domaine doigts de zinc de ZEB2. Les patients porteurs présentent des caractéristiques faciales évocatrices de SMW, mais un retard mental modéré et aucune de malformation associée.

Nous avons montré, dans trois lignées cellulaires (SH-SY5Y, SKNAS et HEK293), à l'aide d'un système de gène rapporteur luciférase, que la mutation p.Ser1071Pro induit la perte d'activité répressive de ZEB2 au niveau du promoteur de l'E-cadhérine alors que la mutation p.Tyr1055Cys, n'entraine qu'une diminution de cette répression. Afin de confirmer ces résultats, nous avons transfecté de façon stable la lignée cellulaire SH-SY5Y avec le cDNA de ZEB2 sauvage et mutés. Nous avons observé que la morphologie des cellules exprimant ZEB2 muté - p.Ser1071Pro est très différente, avec une diminution considérable des prolongements cellulaires, par rapport aux cellules exprimant ZEB2 sauvage. Les cellules exprimant la mutation p.Tyr1055Cys ont une morphologie intermédiaire.

Les résultats des tests fonctionnels in vitro corrèlent avec le phénotype des patients puisque la patiente présentant la mutation p.Tyr1055Cys présente le phénotype le moins sévère.

En conclusion, nous décrivons pour la première fois deux patients avec une forme atténuée de syndrome de Mowat-Wilson, avec une déficience intellectuelle modérée et sans malformations, liée à des mutations faux-sens du gène ZEB2.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P180 - REEVALUATION CLINIQUE DU SYNDROME TRICHO-HEPATO-ENTERIQUE

A Fabre (1), T Busa (2), C Martinez-Vinson (3), B Roquelaure (1), ME Costes (1), A Breton (4), A Lachaux (5), E Odul (6), V Colomb (7), J Lemale (8), JP Cezard (3), O Goulet (9), J Sarles (1), C Badens (10)

1. Service de Pédiatrie Multidisciplinaire, APHM, Marseille, France
2. Service de génétique, APHM, Marseille, France
3. Service de Gastroentérologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. Service d'Hépatologie et Maladies Métaboliques, Hôpital d'enfant, Toulouse, France
5. Unité Fonctionnelle de Nutrition, Hôpital Femme Mère Enfant, Lyon, France
6. Department of Pediatric Gastroenterology, Gazi University School of Medicine, Ankara, Turquie
7. Service de Gastro-entérologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
8. Gastroenterologie et Nutrition Pediatrique, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
9. Service de Gastro-entérologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, Paris, France
10. Laboratoire de Génétique, APHM, Marseille, France

Le syndrome tricho-hepato-entérique a été récemment lié à des mutations du gène TTC37 , un gène codant pour une protéine de grande taille dont la fonction est mal connue chez l'homme,. La caractérisation des bases moléculaires a permis de d'unifier les différentes formes du syndrome rapportées initialement comme des entités cliniques distinctes(diarrhée syndromique, THE ...). La variabilité clinique est importante, et à ce jour les cohortes publiées n'excèdent pas une dizaine de patients. Environ un tiers des patients présentant un syndrome THE typique n'ont pas de mutations dans TTC37.

But : Nous avons voulu mieux décrire le syndrome et évaluer si certains signes étaient prédictifs d'une mutation de TTC37 Matériel et méthode : Nous avons repris l'ensemble des patients décris dans la littérature et ceux de notre cohorte.

Résultats : Sur 41 patients (sex ratio 23/17), 3 signes sont toujours, présents : 2 sont les signes définissant le syndrome: diarrhée grave rebelle et anomalie des cheveux . La dysmorphie faciale ne fait partie des critères diagnostiques mais est constamment retrouvée (41/41). Trois signes sont souvent présent : déficit immunitaire (36/39), RCIU (33/39), atteinte hépatique (23/39). Et 3 signes sons inconstamment présents : anomalie cutanée (15/31), anomalies des plaquettes (7/20) et anomalie cardiaque (7/30). Il n'existe pas de différence entre les patients porteur d'une mutation de TTC37 et ceux non porteur pour la présence ou la fréquence des signes.

Conclusion : le syndrome tricho-hepato-enterique peut être évoqué sur un ensemble de signes assez homogène, notamment une anomalie des cheveux associé à une diarrhée grave rebelle et à une dysmorphie. En cas de suspicion de ce syndrome, une étude du gène TTC37 doit être réalisée.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P181 - GENETIC AND FUNCTIONAL ANALYSES OF SHANK2 MUTATIONS SUGGEST A MULTIPLE HIT MODEL OF AUTISM SPECTRUM DISORDERS

T Bourgeron (1), R Delorme (1), F Fauchereau (1), G Huguet (2), C Leblond (1), R Toro (1)
1. Laboratoire GHFC, Institut Pasteur, Paris, France
2. Laboratoire, GHFC, Paris, France

Autism spectrum disorders (ASD) are a heterogeneous group of neurodevelopmental disorders with a complex inheritance pattern. While many rare variants in synaptic proteins have been identified in patients with ASD, little is known about their effects at the synapse and their interactions with other genetic variations. Here, following the discovery of two de novo SHANK2 deletions by the Autism Genome Project, we identified a novel 421 kb de novo SHANK2 deletion in a patient with autism. We then sequenced SHANK2 in 455 patients with ASD and 431 controls and integrated these results with those reported by Berkel et al. 2010 (n=396 patients and n=659 controls). We observed a significant enrichment of variants affecting conserved amino acids in 29 of 851 (3.4%) patients and in 16 of 1090 (1.5%) controls (P= 0.004, OR= 2.37, 95% CI=1.23-4.70). In neuronal cell cultures, the variants identified in patients were associated with a reduced synaptic density at dendrites compared to the variants only detected in controls (P=0.0013). Interestingly, the three patients with de novo SHANK2 deletions also carried inherited CNVs at 15q11-q13 previously associated with neuropsychiatric disorders. In two cases, the nicotinic receptor CHRNA7 was duplicated and in one case the synaptic translation repressor CYFIP1 was deleted. These results strengthen the role of synaptic gene dysfunction in ASD but also highlight the presence of putative modifier genes, which is in keeping with the “multiple hit model” for ASD. A better knowledge of these genetic interactions will be necessary to understand the complex inheritance pattern of ASD.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P182 - ETUDE ANALYSE D'ASSOCIATION GENETIQUE DE PATIENTS SUEDOIS ATTEINTS DE TROUBLES DU SPECTRE AUTISTIQUE OU DE TROUBLES DE DEFICIT D'ATTENTION AVEC HYPERACTIVITE

Gaf HUGUET (1)
1. GHFC, Institut pasteur, Paris, France

Autism spectrum disorders (ASD) and Attention-deficit/hyperactivity disorders (ADHD) are among the most severe psychiatric disorders in children and both have relatively high heritability. Very little is known on the shared risk factors, and on the susceptibility genes. ASD are characterized by impairments in two major domains – reciprocal social communication, and repetitive, stereotyped and ritualistic behaviours. ADHD is characterized by persistent patterns of inattention and/or impulsivity-hyperactivity that are much more extreme than is observed in individuals at the same developmental level or stage. Recent genome wide association studies (GWAS) have identified single nucleotide polymorphisms (SNP) or copy number variants (CNV) associated with both disorders (see box for genetic definition). Several loci/genes were identified in both disorders and some common biological pathway could be affected in patients with ASD or ADHD (Bourgeron 2009).

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P183 - MUTATION DE LA CONNEXINE 43 DANS UN TABLEAU FAMILIAL ATYPIQUE DE SYNDROME TRICHO-DENTO-OSSEUX OU DE DYSPLASIE OCULO-DENTO-DIGITAL.

S KIEFFER (1), AC BURSZTEJN (2), C MAGDELAINE (3), L LAMBERT (4), B LEHEUP (5)

1. Service de Médecine Infantile et Génétique Clinique, CHU de Nancy, Vandoeuvre les nancy, France
2. Service de Dermatologie, CHU de Nancy et Faculté de Médecine Université de Lorraine, VANDOEUVRE LES NANCY, France
3. Service de biochimie et de génétique moléculaire, CHU Hôpital Dupuytren, LIMOGES, France
4. Service de Médecine Infantile et Génétique Clinique, CHU de Nancy, VANDOEUVRE LES NANCY, France
5. Service de Médecine Infantile et Génétique Clinique, CHU de Nancy et Faculté de Médecine Université de Lorraine, VANDOEUVRE LES NANCY, France

Le syndrome tricho-dento-osseux est une affection autosomique dominante associant des anomalies osseuses avec hyperostose, dentaires et cutanées liées à des mutations de gènes DLX3 et DLX7. La dysplasie oculo-dento-digitale qui peut comporter également une hyperostose est un tableau proche avec des anomalies cutanées lié à des mutations du gène GJA1 codant pour la connexine 43.

Nous rapportons une observation familiale avec une femme et son fils pour laquelle le diagnostic de syndrome tricho-dento-osseux est discuté sur la base de l'association d'une augmentation de la densité osseuse au niveau du crâne, des vertèbres et des os longs, d'une chevelure avec cheveux fins et frisés associée à une alopécie progressive chez l'enfant et alopécie complète chez la mère, les ongles sont fins. On ne retrouve pas d'anomalie dentaire typique chez l'un ou l'autre.

De façon associée on relève chez les deux sujets une kératodermie palmo-plantaire qui fait discuter une dysplasie oculo-dento-digitale mais les deux sujets ne présentent pas non plus d'anomalie oculaire ou de troubles auditifs.

L'étude du gène GJA1 permet de rapporter une mutation faux sens c.113G>A p.G38E impliquant le premier domaine transmembrannaire de la protéine.

Cette observation peut faire discuter des formes intermédiaires ou atypiques d'expression entre le syndrome tricho-dento-osseux et le syndrome oculo-dento-digital qui pourraient être liées à des mutations de la connexine 43.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P184 - IDENTIFICATION D'UNE NOUVELLE MUTATION DU GENE SLC2A10 ASSOCIEE AU SYNDROME DE TORTUOSITE ARTERIELLE

L Golmard (1), E Flori (2), A Eude-Caye (1), M Boussion (1), X Jeunemaître (1)

1. Département de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
2. Service de Cytogénétique, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France

Le syndrome de tortuosité artérielle est une maladie très rare du tissu conjonctif caractérisée par une tortuosité et une élongation des artères de moyen et gros calibre avec de possibles anévrismes, dissections artérielles et accidents vasculaires ischémiques (OMIM #208050). Les manifestations cliniques débutent en général chez le nourrisson ou dans la petite enfance. Le pronostic peut être sévère (mortalité jusqu'à 12% avant l'âge de 5 ans). La transmission est autosomique récessive et le gène responsable, SLC2A10, codant le transporteur facilitateur 10 du glucose, GLUT10, n'a été identifié que récemment. Jusqu'ici, 18 mutations du gène SLC2A10 ont été rapportées dans 34 familles. Nous rapportons un nouveau cas sévère avec l'identification de 2 mutations (1 non-décrite) du gène SLC2A10.

Il s'agit d'un nourrisson de 6 semaines hospitalisé pour détresse respiratoire, hypertension artérielle menaçante et abolition des pouls fémoraux, faisant évoquer le diagnostic de coarctation de l'aorte. L'angioscanner réalisé en urgence a mis en évidence une atteinte généralisée de l'aorte thoracique, abdominale ainsi que des troncs supra-aortiques. Le séquençage direct du gène SLC2A10 a montré 2 mutations faux-sens à l'état hétérozygote : p.Arg132Trp, déjà décrite par Callewaert et al. (2008), et p.Leu85Pro, non décrite, localisée dans le domaine protéique transporteur du substrat, et prédite comme pathogène in silico.

Le syndrome de tortuosité artérielle est une pathologie récessive rare, dont le diagnostic moléculaire peut permettre un conseil génétique à défaut d'une prise en charge souvent difficile compte-tenu de la sévérité de la pathologie.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P185 - IMPLICATION DE NDPK-B DANS LA MUCOVISCIDOSE PAR INTERACTION DIRECTE AVEC LE DOMAINE NBD1 DE LA PROTEINE CFTR

M Kerbiriou (1), A England (2), D Cassidy (3), P Trouvé (1), C Férec (1), L Robson (2), A Mehta (3), R Muimo (4)

1. Laboratoire de génétique moléculaire et génétique épidémiologique, Inserm, U613, Brest, France
2. Department of Biomedical Science, The University of Sheffield, Sheffield, Royaume-Uni
3. Maternal and Child Health Sciences, Ninewells Hospital and Medical School, University of Dundee, Dundee, Royaume-Uni
4. Academic Unit of Child Health, The University of Sheffield, Sheffield Children's Hospital, Sheffield, Royaume-Uni

La mucoviscidose, maladie autosomique récessive la plus fréquente dans les populations caucasiennes, est causée par des mutations dans le gène codant la protéine cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR). Le CFTR agit principalement en tant que canal chlorure (Cl-) localisé dans la membrane apicale des cellules épithéliales et il est régulé par l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) ainsi que par les multiples interactions protéiques que ce dernier établit avec de nombreux partenaires. La protéine nucleoside diphosphate kinase (NDPK) convertit les nucléosides diphosphates en nucléosides triphosphates et agit également en tant que kinase de protéine. Les résultats précédents obtenus par ce groupe d'auteurs ont montré que l'isoforme B de cette famille de protéines (NDPK-B) interagit avec le CFTR dans les membranes de cellules épithéliales bronchiques humaines (16HBE14o-) et de cellules issues de l'épithélium trachéal de mouton, suggérant l'importance de ce complexe dans les processus de signalisation qui régulent la fonction du CFTR dans les épithéliums. Néanmoins, on ne sait pas encore si cette interaction est directe et dans quelle mesure elle régule l'activité du canal CFTR. Dans un premier temps, le but de ce travail était de confirmer ou d'infirmer l'interaction directe entre NDPK-B et CFTR. Dans un second temps, l'objectif était d'établir comment cette interaction se produit en identifiant les sites de liaison sur le CFTR et sur NDPK-B, et de mieux comprendre le rôle de cette kinase sur la régulation de l'activité canal Cl- du CFTR. Nous avons produit une protéine NDPK-B recombinante contenant une étiquette (« tag ») glutathione S-transferase (GST) et le domaine NBD1 du CFTR contenant un tag GST ou histidine (His). Après la purification de ces protéines, nous avons réalisé des expériences de blot overlay et mis en évidence l'interaction directe entre NDPK-B et le domaine NBD1 du CFTR. De plus, l'utilisation de peptides couvrant la région de NBD1 (acides aminés 350 à 747) nous a permis de préciser les sites de cette interaction : acides aminés 357 à 376 et 378 à 397. Des expériences de pull-down ainsi que de résonance plasmonique de surface ont confirmé l'interaction directe entre NDPK-B et le domaine NBD1 du CFTR. Concernant l'aspect fonctionnel, l'inhibition de l'expression de NDPK-B par la technique de l'interférence ARN (small interfering RNA, siRNA) couplée à des analyses électrophysiologiques de patch-clamp a révélé que NDPK-B est nécessaire pour une activité canal Cl- normale du CFTR dans les cellules épithéliales bronchiques humaines. En conclusion, nous avons montré pour la première fois que NDPK-B est directement associée au CFTR et impliquée dans sa fonction.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P186 - MALADIES MITOCHONDRIALES DE L'ADULTE : SPECTRE CLINIQUE ET MOLECULAIRE DES PATIENTS SUIVIS DANS LE CENTRE DE PATHOLOGIE NEUROMUSCULAIRE PARIS-EST.

P Laforêt (1), A Behin (1), T Stojkovic (2), K Wahbi (3), N Benammar (4), A Lombes (5), B Eymard (2), C Jardel (6)

1. Centre de Référence de pathologie neuromusculaire Paris-Est, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
2. Centre de référence de pathologie neuromusculaire Paris-Est, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. centre de référence de pathologie neuromusculaire Paris-Est, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Institut de Myologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Inserm UMRS 1016 ; CNRS UMR 8104, Institut Cochin, Paris, France
6. UF Cardio génétique et Myogénétique, Service de Biochimie B, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Objectif: caractériser les principaux phénotypes et les anomalies génétiques impliquées chez les patients ayant une maladie mitochondriale confirmée, et suivis au sein du centre de référence de pathologie neuromusculaire Paris-Est (hôpital Pitié-Salpêtrière)

Méthodes : Nous avons étudié les dossiers de patients atteints de maladie mitochondriale ayant été examinés au cours des 15 dernières années à la consultation de pathologie musculaire de la Salpêtrière, et confronté les résultats des analyses moléculaires.

Résultats : 265 patients ont été recensés. Le groupe principal est constitué de 109 patients ayant une ophtalmoplégie externe progressive associée une délétion de unique de l'ADN mitochondrial (ADNmit). 50 patients sont porteurs de la mutation m.3243A>G, du gène MT-TL1, et 25 patients sont porteurs de la mutation m.8344A>G, du gène MT-TK ; ces patients présentent les manifestations cliniques des syndromes MELAS et MERRF, parfois dans des formes pauci-symptomatiques. D'autres mutations plus rares de l'ADNmit ont été observées chez 39 patients présentant des symptômes musculaires au premier plan. Des anomalies portant sur le génome nucléaire ont été trouvées chez 42 patients : mutations du gène POLG dans 28 cas, du gène Twinkle dans 10 cas, du gène TK2 dans 3 cas, et du gène ANT1 dans 1 cas ; la plupart de ces patients présentent une ophtalmoplégie, le plus souvent associée à une ganglionopathie dans les mutations POLG.

Conclusions : Les maladies mitochondriales observées dans notre cohorte de patients adultes sont majoritairement en rapport avec des mutations de l'ADNmit (85%), alors que des mutations des gènes nucléaires ne sont retrouvées que dans 15% des cas. Les principaux signes cliniques sont en rapport avec des atteintes du système nerveux central ou périphérique, pouvant être associées à des complications cardiaques ou respiratoires. Un suivi clinique standardisé a été établi de façon à mieux préciser l'histoire naturelle de ces maladies et de dépister précocement les principales complications neurologiques, cardiaques et respiratoires

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P187- COMBINATION OF POSITIONAL CLONING AND NEW GENERATION SEQUENCING IDENTIFIES TWO NOVEL GENES IN SPASTIC PARAPLEGIA INVOLVED IN LIPID METABOLISM

C Tesson (1), M Nawara (1), MAM Salih (3), R Rossignol (2), M Zaki (3), M Al Balwi (4), A Bouhouche (5), A AlDrees (6), E Giraud (2), F Lamari (7), F Santorelli (8), R Schule (9), SA Elmalik (6), MM Kabiraj (10), MZ Seidahmed (11), A Alswaid (4), N Bouslam (5), M Gaussen (1), D Zelenika (12), L Orlando (1), G Gyapay (13), L Schols (9), A Lossos (14), A Durr (1), F Mochel (1), J Lavie (2), I Al Abdulkareem (15), MT Al Rifai (4), A Benomar (5), SA Al Rasheed (4), C Goizet (2), J Gleeson (16), F Darios (1), A Brice (1), G Stevanin (1).

1. Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (INSERM / UPMC UMR_S975, CNRS 7225), Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France.
2. Université de Bordeaux, France.
3. National Research Institute in Cairo Egypt.
4. King Abdulaziz Medical City, Riyadh, Saudi Arabia.
5. Hôpital des Spécialités, Rabat, Morocco.
6. King Saud University, Riyadh, Saudi Arabia.
7. APHP, Hôpital Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, France.
8. IRCCS Fondazione Stella Maris, Calambrone, Pisa, Italy.
9. University of Tuebingen, Germany.
10. Armed Forces Hospital, Riyadh, Saudi Arabia.
11. Security Forces Hospital, Riyadh, Saudi Arabia.
12. Centre National de Génotypage, Evry, France.
13. Genoscope, Evry, France.
14. Hadassah-Hebrew University Medical Center, Jerusalem, Israel.
15. King Abdullah International Medical Research Center, Riyadh, Saudi Arabia.
16. University of California, San Diego.

Hereditary spastic paraplegias, which encompass a wide range of phenotypes, are clinically and genetically one of the most heterogeneous neurological disorders. Autosomal dominant and autosomal recessive, as well as X-linked forms have been described. Known genes account for the majority of dominant cases, but only for less than 40% of the recessive forms. Here, we show that the combination of classical positional cloning and next generation sequencing in consanguineous families with two autosomal recessive forms of these conditions prove very powerful to identify causative mutations.

Sequence capture followed by next generation sequencing of all exons and flanking regions of the SPG28 interval, allowed us to identify a splice site mutation in the DDHD1 gene, encoding for a phosphatidic acid (PA)-preferring phospholipase A1, that was shown to segregate with the disease in the original SPG28 Moroccan family.

In a second family of Saudi Arabian ancestry, genome wide linkage studies mapped the disease locus, *SPG49*, to chromosome 4. Two additional kindreds originating from the same geographical area were also linked to *SPG49* and restricted the candidate interval to <4Mb. Classical Sanger sequencing of the 22 annotated genes revealed a missense mutation in the *CYP2U1* gene encoding for extra hepatic cytochrome P450 protein, segregating in patients in the 3 families, while 2 other mutations were identified in the same gene, including a frameshift mutation in a kindred from Egypt. All mutations were absent in large series of healthy unrelated controls.

All mutations were associated with a decreased mitochondrial respiratory rate in patients' lymphoblasts. Interestingly, both of the new genes are involved in the same pathway related to metabolism of lipids, paving the way for a better understanding of the mechanisms involved in these diseases. Our study underlines the power of next generation sequencing combined with linkage data in gene discovery in rare and genetically heterogeneous disorders.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P188 - LES MUTATIONS DU GENE RUNX1T1, ACTEUR DE LA REPRESSION CHROMATINIENNE, SONT ASSOCIEES A UNE DEFICIENCE INTELLECTUELLE AUTOSOMIQUE DOMINANTE MODEREE A LEGERE

MT Huynh (1), M Béri-Dexheimer (1), C Bonnet (1), M Bronner (1), A Ali Khan (1), L Allou (1), C Philippe (2), J Vigneron (3), P Jonveaux (1)

1. Service de Génétique, CHU Nancy et EA 4368 Université de Lorraine, Vandoeuvre-les-Nancy, France
2. Service de Génétique et EA 4368, CHU Nancy Université de Lorraine, Vandoeuvre les Nancy, France
3. Service de néonatalogie et génétique clinique, Maternité Régionale de Nancy, Nancy, France

Récemment l'interruption du gène RUNX1T1 lors d'une translocation réciproque t(5 ;8), de survenue de novo, a été associée à la survenue une déficience intellectuelle légère à modérée (Zhang et al, Eur J Hum Genet, 2009). RUNX1T1 est hautement exprimé lors du développement cérébral. Il code une protéine qui interagit avec des facteurs de transcription et qui recrute certains corépresseurs facilitant ainsi la répression transcriptionnelle. A ce jour, peu de gènes responsables de déficience intellectuelle se transmettant selon un mode autosomique dominant ont été identifiés.

Dans le champ très évolutif des analyses pangénomiques, nous rapportons l'observation d'une patiente présentant une déficience intellectuelle légère à modérée associée à une délétion de novo intragénique du gène RUNX1T1. Outre la déficience intellectuelle, certaines particularités morphologiques du visage sont partagées entre les deux patients. L'analyse sur micro réseau d'oligonucléotides (Agilent 180K) a identifié une délétion de 37,5 Kb en 8q21. Cette délétion inclut une partie de la séquence codante du gène RUNX1T1. L'analyse en RT-PCR et séquençage de l' ADNc ont permis de confirmer la présence d'un transcrit dont la taille est plus courte par rapport au transcrit sauvage et correspondant à la fusion des exons 2 à 8 sans interruption du cadre de lecture. Nous avons exclu, au seuil de résolution étudiée, une mutation ponctuelle sur l'autre allèle. Cette délétion intragénique donne très vraisemblablement naissance à une protéine qui a perdu deux domaines hautement conservés au cours de l'évolution reconnus pour interagir avec des corépresseurs nucléaires et des enzymes modifiant la conformation de la chromatine.
Cette deuxième observation renforce ainsi l'hypothèse que la mutation du gène RUNX1T1 participe à la pathogenèse de la déficience intellectuelle légère à modérée, autosomique dominante.

Remerciements : La fondation Jérôme Lejeune, La Communauté Urbaine du Grand Nancy, la Direction Générale de l'Organisation des Soins(Ministère de la Santé)

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P189 - MUCOVISCIDOSE EN TUNISIE : SPECTRE DE MUTATIONS ET CORRELATION GENOTYPE-PHENOTYPE

CYSTIC FIBROSIS IN TUNISIA: SPECTRUM OF MUTATIONS AND GENOTYPE-PHENOTYPE CORRELATION

S HADJ FREDJ (1), T ALOULOU (2), H SIALA (1), A BIBI (1), T MESSAOUD (1)

1. Laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire, Hôpital d'Enfants, Tunis, Tunisie
2. Service de pédiatrie, Hôpital Hédi chaker, Sfax, Tunisie

La mucoviscidose était longtemps considérée comme exceptionnelle dans les populations Nord-africaines ce qui était à l'origine de la méconnaissance de divers aspects de diagnostic de cette pathologie dans notre pays.

La détermination du spectre de distribution des mutations responsables de la mucoviscidose dans notre population représente un intérêt dans un pays qui a constitué, durant des siècles, un lieu de brassage de populations de différents peuples méditerranéens, orientaux et africains.

Objectifs : Nous nous sommes intéressés dans le présent travail au diagnostic phénotypique et génotypique de la mucoviscidose chez une population tunisienne.

Patients et méthodes : Notre travail a porté sur 68 malades ayant un test de la sueur positif par iontophorèse à la pilocarpine (technique de l'Exsudose). Le balayage total des séquences codantes et les jonctions introns-exons du gène CFTR était la stratégie que nous avons adoptée pour l'identification des mutations responsables de la mucoviscidose. Deux techniques sont utilisées pour détecter toute altération de séquence dans un fragment d'ADN amplifié : l'électrophorèse sur gel en gradient dénaturant (DGGE) et la chromatographie liquide haute performance en conditions dénaturantes (DHPLC) suivies par une réaction de séquençage.

Résultats et discussion : L'étude exhaustive des 27 exons du gène CFTR nous a permis d'identifier 12 mutations : 6 déjà rapportées dans notre population; 3 mutations décrites pour la première fois en Tunisie (R785X, R1158X, 4016insT) et trois nouvelles mutations (1811+5 GàT, I1203V et 4268+2TàG).

L'identification des anomalies moléculaires nous a permis d'établir des relations entre le génotype et le phénotype des patients étudiés. Ainsi, l'atteinte pancréatique parait dépendre de la nature des mutations. Par contre, la fonction pulmonaire, l'âge de début de la maladie et le taux de chlore sudoral sont difficilement corrélés à un génotype particulier.

Conclusion : Les résultats obtenus dans le présent travail ont contribué à une meilleure connaissance des anomalies moléculaires mises en cause dans la mucoviscidose en Tunisie ce qui nous a permis d'enrichir les bases de données épidémiologiques et d'établir des corrélations entre le phénotype clinique et le génotype.

Mots clés : Mucoviscidose- mutations- génotype-phénotype.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P190 - ASSOCIATION DE DEUX MUTATIONS MITOCHONDRIALES (M.3395A>G ET M.4316A>G) CHEZ UNE PATIENTE TUNISIENNE ATTEINTE DE CARDIOMYOPATHIE HYPERTROPHIQUE ET DE SURDITE

H Aloulou (1), I Chamkha (2), F Fakhfakh (3), N Fendri Kriaa (3), M Hachicha (1), C Kifagi (4), E Mkaouar-Rebai (3)

1. Service de Pédiatrie, Hôpital Hèdi Chaker, Sfax, Tunisie
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de médecine, Sfax, Tunisie
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie
4. Unité Cible pour le Diagnostic et la Thérapie, Centre de Biotechnologie, Sfax, Tunisie

Les maladies mitochondriales sont des affections complexes liées à un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale. Ces déficits touchent les organes dépendant d'un haut débit d'énergie, dont le cœur, causant ainsi des cardiomyopathies. Ces cardiomyopathies mitochondriales sont souvent observées au cours de l'enfance précoce, voire en période néonatale ou même anténatale. Elles sont classées selon 3 formes : une forme hypertrophique, une forme dilatée et une forme restrictive. Elles peuvent être isolées ou associées à d'autres atteintes telle que la surdité et le diabète. Ce groupe de cardiomyopathie a été associé à plusieurs mutations ponctuelles de l'ADNmt au niveau des gènes codant des ARN de transfert et ceux codant des sous-unités de la chaîne respiratoire. Des mutations au niveau de certains gènes nucléaires ont été aussi associées à ces cardiomyopathies.

Notre étude a porté sur une patiente tunisienne âgée d'un an qui a développé une cardiomyopathie hypertrophie biventriculaire prédominante sur le ventricule gauche dès sa naissance associée à une surdité bilatérale congénitale. L'analyse du génome mitochondrial a montré la présence de 19 polymorphismes associés aux cardiomyopathies et/ou à la surdité et deux nouvelles variations hétéroplasmiques : m.3395A>G au niveau du gène ND1 (Y30C) touchant un acide aminé hautement conservé au niveau du gène ND1 et m.4316A>G localisée à la position A54 de l'ARNtIle. Ces deux nouvelles variations étaient absentes chez 150 contrôles. Toutes ces variations pourraient avoir un effet synergique pour produire un effet cumulatif négatif sur la fonction de la chaine respiratoire mitochondriale et générer cette atteinte cardiaque et auditive. En perspectives, notre étude sera orientée vers une étude fonctionnelle de ces deux nouvelles variations pour confirmer leur implication dans l'atteinte cardiaque et trancher quant à leur effet synergique.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P191 - PREDICTION IN SILICO DE MUTATIONS EXONIQUES INDUISANT UN EPISSAGE ALTERNATIF DU GENE CFTR : IMPLICATION POUR LE DIAGNOSTIC

A Aissat (1), A de Becdelièvre (1), L Golmard (2), C Costa (2), A Chaoui (3), N Martin (1), B Costes (1), M Goossens (2), E Girodon (2), P Fanen (1), A Hinzpeter (1)

1. Inserm U955, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
2. Service de Biochimie-Génétique, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
3. Inserm U955, Hôpital Henri Mondor, C, France

Le gène CFTR, dont les mutations sont responsables de la mucoviscidose et d'autres formes monosymptomatiques, est un gène largement étudié depuis 1989. Parmi les 1800 mutations identifiées dans ce gène, il est difficile de les classer comme étant neutres ou pathogéniques. Ces mutations peuvent altérer différents processus biologiques comme la transcription, l'épissage ou l'activité protéique.

Dans cette étude, nous avons recherché à prédire les mutations exoniques pouvant induire l'épissage de l'exon. En utilisant différents outils bioinformatiques, nous avons tout d'abord analysé tous les exons du gène CFTR et identifié ceux qui présentaient des signaux d'épissage faibles soit au niveau de leurs motifs constitutifs (site de branchement et sites accepteurs ou donneur) soit de leurs motifs régulateurs (exon splicing enhancer ESE et exon splicing silencer ESS). Les données de la littérature permettent de confirmer une partie de ces résultats puisque ces exons « faibles » paraissent plus susceptibles d'être partiellement épissés par des mutations exoniques (exons 9, 12 et 13) que des exons ayant des signaux d'épissage fort. Pour conforter cette hypothèse, nous avons évalué des mutations exoniques dans les exons 3, 4 et 5 en utilisant un modèle de minigène. En effet, l'exon 3 est constitué de motifs régulateurs « faibles », l'exon 5 présente un site donneur faible alors que l'exon 4 présente des signaux d'épissage fort. Nous n'avons identifié aucune mutation induisant un épissage dans l'exon 4 (0 sur 6 testées) alors que celles-ci ont été identifiées dans l'exon 3 (4 sur 8 testées) et 5 (4 sur 5 testées), validant ainsi notre hypothèse. L'épissage alternatif de l'exon 3 a ensuite été confirmé in vivo chez deux hétérozygotes pour l'une de ces mutations.

Parallèlement, l'analyse de l'exon 3 a permis de montrer l'implication de la SR protéine SF2/ASF dans la reconnaissance de cet exon. Nous avons donc modulé l'expression de SF2/ASF et montré que sa surexpression corrigeait partiellement le défaut d'épissage associé à certaines mutations de l'exon 3.

Ainsi, il apparaît que les exons de CFTR ayant des motifs d'épissage « faibles » paraissent plus susceptibles de contenir des mutations induisant un saut de l'exon. L'identification de ces exons faibles permettra de mieux prédire les conséquences de certaines mutations exoniques et de les évaluer en priorité au niveau de l'ARNm. Nos travaux ont permis de montrer que ce phénomène était beaucoup plus fréquent qu'attendu ce qui nous conduit à proposer une stratégie d'étude des mutations exoniques qui combine des analyses in vitro, in silico et in vivo.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P192 - MUTATIONS DU FGFR1 : UNE NOUVELLE CAUSE DE MALFORMATION « MAINS / PIEDS FENDUS » ASSOCIEE A DES ANOMALIES COMPLEXES DU DEVELOPPEMENT DONT LE SYNDROME DE KALLMANN.

C Villanueva (1), M Gérard (2), J Leger (3), C Baumann (2), V Drouin- Garraud (4), H Lefèbvre (5), Z Hochberg (6), M Polak (7), D Simon (8), M Castanet (9), T Santerre (10), G Viot (11), A Verloes (2), JC Carel (3), S Manouvrier (12), N de Roux (13)

1. Service d'endocrinologie et diabétologie pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Paris, Paris, France
2. Service de génétique clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
3. Service d'endocrinologie et diabétologie pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. Service de génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
5. Service d'endocrinologie diabète et maladies métaboliques, CHU de Rouen, Rouen, France
6. Ramdan Medical Center, Hôpital Meyer Children's, Haifa, France
7. Service d'endocrinologie et diabétologie pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France
8. Service d'endocrinologie et diabétologie pédiatrique, Hôpital Robert debré, Paris, France
9. Service de Pédiatrie médicale, CHU de Rouen, Rouen, France
10. Service de génétique, CHU d'Amiens, Amiens, France
11. Service de génétique, Hôpital Cochin, Paris, France
12. Service de génétique, CHR de Lille, Lille, France
13. Laboratoire de Biochimie Hormonale. Inserm 676, Hôpital Robert Debré, Paris, France

L'anomalie « mains / pieds fendus » (SHFM) est une malformation des extrémités des membres qui peut être isolée ou associée à d'autres anomalies du développement dont notamment une fente labio-palatine et/ou une dysplasie ectodermique dans le syndrome EEC. Plusieurs loci sont décrits dans la forme isolée du SHFM dont des mutations dominantes de TP63 ou récessives de WNTB6 mais également des microduplications en 10q34. Les causes connues de SHFM syndromique comprennent notamment des mutations de TP63 dans le syndrome EEC. Il persiste de nombreux cas de SHFM syndromiques orphelins. Récemment, des mutations du FGFR1 ont été décrites dans la forme dominante du syndrome de Kallmann (KS) qui est défini par l'association d'un déficit gonadotrope et une arhinencéphalie. L'une des particularités des mutations du FGFR1 dans le KS est la fréquence élevée des syndactylies et des fentes labio-palatines sans qu'il soit rapporté à ce jour une association avec la SHFM.

Au cours de ce travail, nous avons testé l'hypothèse que la SHFM associée à au moins une dysplasie ectodermique, une fente palatine, une arhinencéphalie ou un déficit gonadotrope pourrait être due à des mutations du FGFR1. Pour cela, nous avons séquencé les exons du FGFR1 à partir de l'ADN extrait des lymphocytes de 13 patients ayant ce phénotype sans mutation de TP63. 7 mutations faux sens hétérozygotes du FGFR1 ont été trouvées chez 7 patients dont 1 mutation dans un cas d'EEC isolé avec fente palatine chez une fille pré-pubère. Ces mutations sont localisées dans le domaine tyrosine kinase mais également dans le domaine extracellulaire du FGFR1. 1 mutation est survenue de novo. L'analyse familiale pour les 6 autres mutations a montré une expressivité très variable du phénotype allant d'une agénésie dentaire isolée à un syndrome de Kallmann avec déficit gonadotrope sévère. L'IRM centrée sur les bulbes olfactifs n'a pas mis en évidence d'agénésie des bulbes olfactifs dans 3 cas.

Le FGFR1 est donc un nouveau gène candidat pour le syndrome EEC ou pour un phénotype comprenant une SHFM associée à une fente palatine et/ou une arhinencéphalie suspectée devant une cryptorchidie ou un micropénis chez un garçon à la naissance. Ce travail montre l'importance du FGFR1 dans le développement des extrémités des membres comme cela était déjà connu pour les FGFR2 et FGFR3.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P193 - UNE OBSERVATION EXCEPTIONNELLE DE SYNDROME DE TREACHER COLLINS AUTOSOMIQUE RECESSIF : BASES MOLECULAIRES ET CONSEIL GENETIQUE

E Schaefer (1), C Collet (2), C Bolender (3), MM Eliot (4), D Genevive (5), H Dollfus (1), B Doray (1)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
2. Service de biochimie et biologie moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France
3. Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier Général, Haguenau, France
4. Service d'ORL, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
5. Service de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

Le Syndrome de Treacher Collins ou Syndrome de Franceschetti résulte d'une anomalie du développement du massif cranio-facial à type de dysostose mandibulo-faciale. Il est responsable d'une dysmorphie faciale comportant en particulier une hypoplasie malaire, un micrognathisme et des anomalies de l'oreille externe et moyenne à l'origine d'une surdité. Une grande variabilité phénotypique inter et intrafamiliale caractérise ce syndrome ; le spectre phénotypique s'étend de formes asymptomatiques à des formes très sévères nécessitant une prise en charge multidisciplinaire complexe.

Le syndrome de Treacher Collins est transmis sur le mode autosomique dominant. Des mutations hétérozygotes de novo ou héritées d'un parent dans le gène TCOF1 sont identifiées chez 80% des patients. Récemment, des mutations ont été rapportées dans deux autres gènes codant des sous-unités des ARN polymérases I et III : le gène POLR1D également impliqué dans une forme autosomique dominante, et le gène POLR1C, responsable d'une forme autosomique récessive. Ces deux gènes rendraient compte d'environ 2% des cas de syndrome de Treacher Collins.

Nous rapportons ici l'observation d'une patiente, issue d'une union consanguine, atteinte d'une forme modérée de syndrome de Treacher Collins. L'absence de mutation dans le gène TCOF1, contrastant avec la diminution de la synthèse de son ARNm, a conduit à analyser le gène POLR1D. Une mutation à l'état homozygote dans POLR1D a été identifiée chez la patiente, et retrouvée à l'état hétérozygote chez ses parents et sa sœur, asymptomatiques.

Nous décrivons le premier cas de syndrome de Treacher Collins associé au gène POLR1D et transmis sur le mode autosomique récessif. Cette observation vient renforcer le concept d'hétérogénéité génétique de ce syndrome. Ainsi, seule une étude familiale, tant clinique que moléculaire, peut conduire à un conseil génétique éclairé.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P194 - CONFIRMATION DE L'IMPLICATION DU GENE SETBP1 DANS LE SYNDROME DE SCHINZEL-GIEDION CHEZ DEUX ENFANTS ET DESCRIPTION DE LEUR EVOLUTION CLINIQUE SUR 10 ANS.

E Schaefer (1), V Pelletier (2), Y Alembik (3), A De Saint Martin (4), D Christmann (5), M Fischbach (4), C Stoetzel (1), H Dollfus (1)

1. Laboratoire de Physiopathologie des Syndromes Rares Héréditaires, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Centre de Référence pour les Affections Rares en Génétique Ophtalmologique, Hôpital Civil, Strasbourg, France
3. Service de Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
4. Service de Pédiatrie 1, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
5. Service de radiologie 2, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France

Le syndrome de Schinzel-Giedion se définit cliniquement par l'association d'un retard mental sévère, d'une dysmorphie faciale et de malformations. La dysmorphie faciale caractéristique associe des traits grossiers, une hypoplasie de l'étage moyen de la face, une proptose oculaire, des cernes marqués et un hypertélorisme. Les malformations sont principalement uro-génitales (hydronéphrose, micropénis avec hypospade chez le garçon, hypoplasie des grandes et petites lèvres chez la fille) et squelettiques (fontanelle antérieure large et béance des sutures crâniennes, sclérose de la base du crâne, épaississement des diaphyses des os longs, côtes larges et os pubiens hypoplasiques) mais également rénales et cardiaques. Le retard mental profond et l'épilepsie sévère et pharmaco-résistante sont constants dans le syndrome de Schinzel-Giedion et en font la gravité. L'espérance de vie est faible et les enfants décèdent dans la première année de vie le plus souvent.

La plupart des enfants atteints de syndrome de Schinzel-Giedion sont des cas sporadiques. Des mutations hétérozygotes de novo ont été identifiées récemment dans le gène SETBP1 grâce à une technique de capture d'exons (Hoischen et al., 2010). Les mutations décrites à ce jour ne concernent que 3 acides aminés situés dans une région de 11 paires de bases de l'exon 4 du gène.

Nous avions rapporté en 2002 l'observation de 2 enfants, suivis sur une période de 3 ans, atteints de syndrome de Schienzel Giedion (Minn et al., 2002) avec un phénotype similaire associant une dysmorphie faciale caractéristique, un retard mental, une épilepsie, une mégacalicose, une alacrimie avec hypoesthésie cornéenne et une malformation des osselets.

L'un est décédé à l'âge de 6 ans ; l'autre est toujours en vie à 13 ans, survie jamais décrite dans la littérature. Les 2 enfants ont un retard psychomoteur sévère avec une épilepsie pharmaco-résistante, aggravé par une surdité profonde et une cécité par atrophie des nerfs optiques. Tous les deux ont présenté des complications rénales (calculs rénaux, dysplasie rénale) et orthopédiques (luxations, rétractions articulaires, scoliose). Sur le plan neurologique, l'un des enfants a développé une hydrocéphalie majeure cliniquement symptomatique.

L'analyse moléculaire réalisée dans le laboratoire a montré que les 2 enfants étaient porteurs de la mutation G870S à l'état hétérozygote dans le gène SETBP1, mutation déjà rapportée dans la littérature. La ségrégation familiale, réalisée pour l'un d'eux, permet d'affirmer le caractère de novo de la mutation.

Notre observation confirme l'implication du gène SETBP1 comme gène majeur du syndrome de Schinzel-Giedon et décrit l'évolution clinique et radiologique de 2 enfants atteints de ce syndrome sur une période de 6 et 13 ans.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P195 - SURDITE CONGENITALE AVEC AGENESIE DE L'OREILLE INTERNE, MICROTIE ET MICRODONTIE ASSOCIEE A UNE NOUVELLE MUTATION HOMOZYGOTE DANS LE GENE FGF3.

E Schaefer (1), J Lauer (1), V Pelletier (2), S Riehm (3), M Minoux (4), F Clauss (5), J Veillon (3), C Stoetzel (1), H Dollfus (1)

1. Laboratoire de Physiopathologie des Syndromes Rares Héréditaires, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Centre de Référence pour les Affections Rares en Génétique Ophtalmologique, Hôpital Civil, Strasbourg, France
3. Service de Radiologie 1, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
4. Departement d'Odontologie Conservatrice, Faculté de Chirurgie Dentaire, Strasbourg, France
5. Département de Pédodontie, Faculté de Chirurgie Dentaire, Strasbourg, France

Le syndrome LAMM est un syndrome rare caractérisé par l'association d'une aplasie du labyrinthe de l'oreille interne responsable de surdité, d'une microtie et d'une microdontie. Il existe une variabilité phénotypique inter et intrafamiliale.

Le syndrome LAMM se transmet sur le mode autosomique récessif et est lié à des mutations du gène FGF3. Les premières mutations ont été rapportées à l'état homozygote dans 3 familles consanguines d'origine turque (Tekin et al., 2007). Depuis, 9 autres mutations ont été rapportées à l'état homozygote ou hétérozygote composite dans 10 familles. Ces mutations sont variées (faux-sens, non-sens, décalage du cadre de lecture) et se situent tout le long du gène.

Nous rapportons l'observation d'une famille d'origine française non consanguine dont les deux enfants sont atteints d'un syndrome LAMM. Le garçon présente des anomalies de l'oreille externe à type de microtie avec des auricules petites dans la partie supérieure et antéversées, associées à une surdité profonde bilatérale. L'imagerie de l'oreille interne met en évidence une absence de labyrinthe (aplasie de Michel) et une malformation des structures de l'oreille moyenne (marteaux, étriers, canaux, muscles tenseurs et tympans) de façon bilatérale. Le patient réussit à communiquer verbalement et par lecture labiale. L'examen dentaire retrouve une microdontie généralisée avec des dents de petite taille et largement espacées mais également une oligodontie (agénésie de 7 dents) avec persistance des dents temporaires, une dyschromie et un taurodontisme.

Sa sœur présente elle aussi une microtie et une surdité profonde bilatérale avec les mêmes anomalies radiologiques que son frère. La patiente communique grâce au langage des signes. Sur le plan dentaire, l'examen retrouve également une microdontie et une oligodontie mais dans une forme moins sévère que son frère.

L'analyse moléculaire a montré que les deux enfants étaient porteurs d'une mutation touchant le premier acide aminé à l'état homozygote (p.M1R; c.2T>G), mutation jamais rapportée dans la littérature. D'après les données de la littérature, une telle mutation entraîne une absence de traduction de l'ARNm par perte de la méthionine initiatrice si la seconde méthionine identifiée n'est pas en phase, ce qui est le cas dans notre famille. L'étude de la ségrégation familiale montre que les deux parents sont hétérozygotes pour la mutation alors qu'ils ne sont pas apparentés mais originaires de la même région d'Alsace. Une puce d'homozygotie de type 10K est réalisée à la recherche d'une consanguinité lointaine.

Notre observation confirme l'implication du gène FGF3 dans le syndrome LAMM, la diversité des mutations identifiées et la variabilité phénotypique au sein d'une même famille.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P196 - ETUDE DE CORRELATION PHENOTYPE-GENOTYPE DU DEFICIT EN GLUCOSE-6-PHOSPHATE DESHYDROGENASE EN TUNISIE.

N Laouini (1), H Ammar (1), N Mzoughi (1), N Aoun (1), A Zayani (1), CA Sahli (1), L Jouini (1), F Ouali (1), S Hadj Fredj (1), H Siala (1), A Bibi (1), T Messaoud (1)

1. Laboratoire de Biochimie, Hôpital d'Enfants, Tunis, Tunisie

Le déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) constitue l'enzymopathie la plus répandue dans le monde. Elle touche plus de 420 millions de personnes à travers le monde. Ce déficit est du à un manque de synthèse de la G6PD qui est une enzyme clé de la voie des pentoses mono phosphates. Son rôle dans le globule rouge est de régénérer les systèmes de protection contre les agents oxydants grâce à la production du NADPH. L'OMS a établit une classification du déficit en se basant sur le degré du déficit et la sévérité des manifestations cliniques de la classe I avec une anémie chronique à la classe V présentant une activité accrue. Au niveau moléculaire plus de 160 mutations ont été décrites à travers le monde, la majorité de ces mutations sont des changements d'une seule base entrainant des substitutions des acides aminés (faux sens).

Dans le présent travail nous nous sommes intéressés à la détermination de la fourchette de normalité de l'activité enzymatique de la G6PD par mesure spectrophotométrique chez un groupe de 128 sujets sains, à l'expression des activités en pourcentage et à l'établissement de corrélations phénotype-génotype.

L'étude phénotypique a révélé des valeurs normales de G6PD se situant entre 5.79 et 11.22 UI/g Hb. La détermination de l'intervalle de normalité nous a permis d'exprimer l'activité enzymatique des sujets déficitaires en pourcentage d'activité résiduelle et de les classer selon la classification de l'OMS.

Ainsi sur une cohorte de 40 sujets, 60% ont été considérés de classe III avec un déficit enzymatique modéré, 7.5% de classe II présentant un déficit sévère, 25% sont de classe IV et sont par conséquent normaux et 7.5% sont de classe V. La recherche des mutations à l'origine du déficit en G6PD par les techniques de PCR-RFLP a révélé la présence de l'allèle Africain Gd A- (Matera) dans 71.87% suivi de l'allèle méditerranéen Gd B- (Med) dans 18.75% des cas. Chez 9.37 % des déficitaires aucune mutation n'a pu être déterminée. Ainsi la « Matera » connue pour être à l'origine d'un phénotype modéré, est la mutation la plus prévalente en Tunisie suivie de la « Med », responsable d'un phénotype sévère. Les sujets de sexe masculin hémizygotes pour l'allèle Gd A- sont effectivement tous de classe III, alors que ceux présentant l'allèle Gd B- sont majoritairement de classe II. Toutefois nous avons noté qu'à l'état hétérozygote, l'allèle Gd B- ne semble pas prédisposer à une forme plus sévère que l'allèle Gd A- . Sur le plan expression clinique, nous avons noté des manifestations à type de favisme et d'hémolyse modérée dans la majorité des cas. Une notion d'ictère néo-natal pathologique a été également constatée mettant l'accent sur la nécessité de dépister ce déficit en période néo-natale et à rechercher les mères conductrices moyennant les techniques de biologie moléculaire.

Mots clés : Enzymopathie; G6PD; Mutations (Matera, Med).

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P197 - LE SYNDROME DE GOLDBERG-SHPRINTZEN: CARACTERISATION CLINIQUE ET MOLECULAIRE D'UN NOUVEAU CAS ET CONFIRMATION DE L'IMPLICATION DU GENE KIAA1279

K N'Guyen (1), C Missirian (2), C Badens (3), E Campana-Salort (4), A Moncla (2), N Philip (5), C Popovici (2)

1. Unité de Génétique Clinique, Hôpital Timone Enfants Assistance Publique - Hôpitaux de Marseille, Marseille, France, Assistance Publique, Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
2. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Timone Enfants, Assistance Publique - Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Timone Enfants, Assistance Publique - Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
4. Service de Neurologie, Hôpital Timone Adultes, Assistance Publique - Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
5. Unité de Génétique Clinique, Hôpital Timone Enfants, Assistance Publique - Hôpitaux de Marseille, Marseille, France

La maladie de Hirschsprung est une malformation congénitale fréquente qui peut être isolée ou associée à d'autres malformations congénitales dans des syndromes chromosomiques (la trisomie 21 étant la plus fréquente) ou géniques (syndrome de Waardenburg, de Mowat-Wilson, de Pitt-Hopkins, de Goldberg-Shprintzen, etc.). Le syndrome de Goldberg-Shprintzen (SGS) est un syndrome récessif très rare associant dysmorphie faciale, microcéphalie, polymicrogyrie, retard mental et maladie de Hirschsprung. Des mutations homozygotes du gène KIAA1279 ont été identifiées dans trois familles consanguines de SGS.

Nous présentons ici la caractérisation clinique et biologique d'un nouveau cas de SGS. Chez ce patient, âgé maintenant de 27 ans, une maladie de Hirschsprung a été diagnostiqué à la naissance et opérée à 4 mois. Une consultation de génétique clinique a été réalisée à 9 ans, justifiée par un retard des acquisitions. L'examen a montré une dysmorphie faciale caractérisée par une racine du nez saillante, une petite bouche, des malpositions dentaires, des oreilles grandes et mal ourlées, et une microcéphalie. L'examen neurologique a mis en évidence une hypotonie, un syndrome pyramidal, un retard mental. La biopsie musculaire a montré la présence de modifications de l'architecture myofibrillaire associées à des lésions « central core ». Devant l'association dysmorphie, retard mental et maladie de Hirschsprung le diagnostic de SGS a été proposé. Une IRM cérébrale réalisée à l'âge de 26 ans a mis en évidence une micropolygyrie bilatérale étendue.

L'analyse de l'ADN par la technique d'hybridation génomique comparative sur microréseau d'ADN a mis en évidence une délétion localisée sur le bras long du chromosome 10, en 10q21.3, d'une taille estimée à environ 23 Kb. L'intervalle minimal délété contient la région promotrice et les 5 premiers exons du gène KIAA1279. L'amplification par PCR et le séquençage du fragment jonctionnel de l'allèle délété ont permis de montrer que la délétion emporte la région 5' et les 6 premiers exons du gène KIAA1279. Ce réarrangement détermine un allèle perte de fonction. Le séquençage des régions codantes du gène KIAA1279 a mis en évidence une mutation à type insertion d'un nucléotide dans l'exon 7. Cette mutation détermine le changement du cadre de lecture et l'apparition d'un codon stop prématuré qui abouti à la synthèse d'une protéine tronquée de seulement 330 acides aminés et la perte des 291 acides aminés situés dans la région C-terminale de la protéine correspondant à la majeure partie du domaine KIF-1 binding protein, le domaine fonctionnel de la protéine.

Cette observation, la première d'un patient issu d'une famille non consanguine porteur d'un SGS lié à des mutations du gène KIAA1279, confirme la présence d'anomalies du développement cortical à type de polymicrogyrie chez les patients atteints de ce syndrome et met en valeur l'apport de l'analyse par a-CGH dans l'identification des cas sporadiques avec maladies récessives.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P198 - ASPECTS CLINIQUES ET GENETIQUES DES AMYOTROPHIES SPINALES OBSERVEES DANS L`EST ALGERIEN

SPINAL MUSCULAR ATROPHY CLINICAL AND GENETIC ASPECTS OBSERVED IN THE EAST OF ALGERIA

Y sifi (1), K Sifi (2), N Abadi (3), JP Bonnefont (4), C Benlatreche (5), A Hamri (6)

1. Service de Neurologie Laboratoire de biologie et de génétique moléculaire de la faculte de Medecine Universte de Constantine MC et du CHU de Constantine, CHU Benbadis de Constantine, Constantine, Algérie
2. Laboratoire de Biochimie Laboratoire de biologie et de génétique moléculaire faculté de Médecine universite de Constantine Algérie, CHU Benbadis de Constantine, Constantine, Algérie
3. Laboratoire de biochimie Laboratoire de biologie et de génétique moléculaire Faculté de Médecine Université de Constantine Algérie, CHU Benbadis de Constantine, Constantine, Algérie
4. Laboratoire de biologie et de génétique moléculaire de l`hôpital Necker de Paris., Hôpital Necker de Paris., Paris, France
5. Laboratoire de biochimie Laboratoire de biologie et de génétique moléculaire Faculté de Médecine Université de Constantine Algérie, CHU Benbadis de Constantine, Constantine, Algérie
6. Service de neurologie Laboratoire de biologie et de génétique moléculaire de la faculte de Medecine de l'université de Constantine, CHU Benbadis de Constantine, Constantine, Algérie

Introduction

Les amyotrophies spinales (SMA) constituent un groupe de maladies neuromusculaires très hétérogènes tant sur le plan clinique que génétique, elles sont le plus souvent de transmission autosomique récessive. La mutation responsable du phénotype SMA est dans plus de 95 %
des cas une délétion homozygote des exons 7 et 8 du gène SMNt sans corrélation entre le phénotype, en effet le nombre de copies du gène SMNc semble être corrélé à la sévérité du phénotype.

Patients et méthodes

Nous avons analysé de manière prospective, du premier janvier 2002 au 31 Juillet 2008 le phénotype et le génotype de 92 malades atteints d`une SMA, tous nos patients répondaient aux critères établis par le consortium international (Munsat T L et al 1991) et par Zerres et al (1997). L'analyse moléculaire a été effectuée dans un premier temps au laboratoire de biologie et de génétique moléculaire de la faculté de médecine de Constantine, elle consistait à rechercher les délétions homozygotes des exons 7 et 8 du gène SMNt permettant de confirmer le diagnostic de SMA et les délétions homozygotes des exons 4 et 5 du gène NAIP pour établir des corrélations entre le phénotype et le génotype. Dans un deuxième temps le dosage du nombre de copies du gène SMNc a été réalisé aux laboratoires de génétique moléculaire du CHUR de Strasbourg et de l`hôpital Necker enfants malades de Paris.

Résultats et discussion

Nos patients étaient repartis en 20 SMA (21,74 %) de type I, 16 (17,39 %) de type II,
53 (57,61 %) de type III et 3 (3,26 %) de type IV. Les délétions homozygotes des exons 7 et 8 du gène SMNt étaient observées chez 75,43 % de nos patients. L'analyse du gène NAIP a mis en évidence des délétions homozygotes des exons 4 et 5 chez 15 familles (soit 26,31 %) avec la répartition suivante : 4/14 familles (soit 28,57 %) de type I, 2/10 familles (soit 20 %) de type II et 9/31 familles (soit 15,78 %) de type III. Par ailleurs nous avons noté une corrélation inverse entre le nombre de copies SMNc et la sévérité du phénotype, en effet plus le nombre de copies est élevé moins le phénotype est sévère.

CONCLUSION

Les résultats de notre étude concordent avec de nombreuses données de la littérature.

Mots clés:SMA,SMNt,NAIP,SMNc copies

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P199 - DYSPLASIE ECTODERMIQUE ANHIDROTIQUE AVEC DEFICIT IMMUNITAIRE ET OSTEOPETROSE TRAITEE AVEC SUCCES PAR GREFFE DE CELLULES SOUCHES HEMATOPOÏETIQUES

E Colin (1), C Picard (2), S Unger (3), E Lausch (3), F Troussier (4), L Martin (5), P Frange (6), A Fischer (6), K Reicherter (3), D Bonneau (7), I Pellier (8)

1. Service de Génétique, CHU Angers, Angers, France
2. Centre d'étude des déficits immunitaires, Hopital Necker, Paris, France
3. Service de génétique, Centre de Pédiatrie et de Médecine de l'adolescent, Freiburg, Allemagne
4. Service de pédiatrie, CHU Angers, Angers, France
5. Service de dermatologie, CHU Angers, Angers, France
6. Service d'hématologie et immunologie pédiatrique, Hopital Necker, Paris, France
7. Service de génétique, CHU Angers, Angers, France
8. Service d'hématologie et immunologie pédiatrique, CHU Angers, Angers, France

La dysplasie ectodermique anhidrotique avec déficit immunitaire liée à l'X (EDA-ID) est une maladie très rare (1/250 000) liée à la présence d'une mutation hypomorphe hémizygote du gène IKBKG/NEMO. Nous rapportons ici l'observation de deux frères, issus d'une fratrie de 4, porteurs de cette affection associée à une ostéopétrose (O-EDA-ID).

Un garçon de 3 mois, deuxième de sa fratrie, présente à l'âge de 3 mois une érythrodermie et une colite. A l'examen il existe des cheveux clairs et épars. Il n'y a pas de lymphoedème. Biologiquement, on note une hyperlymphocytose, une hyperéosinophilie importante et une hypogammaglobulinémie sévère. Le phénotypage lymphocytaire est normal. Les radiographies mettent en évidence une dysplasie métaphysaire. L'enfant décéde à l'âge de 6 mois d'un choc septique à P. aeruginosa malgré un traitement institué par Immunoglobulines polyvalentes (Ig) et sulfaméthoxazole-triméthoprime en continu. L'étude moléculaire identifiera une mutation hémizygote (c.1237insT) dans l'exon 10 du gène IKBKG. Cette mutation sera retrouvée chez la mère. L'examen maternel retrouve de minimes lésions compatibles avec des séquelles d'incontinentia pigmenti (IP). Un troisième garçon nait un an plus tard, également porteur de l'anomalie moléculaire. Cliniquement, on ne retrouve pas d'anomalie hormis une diarrhée à 3 mois de vie. Biologiquement apparait rapidement une hypogammaglobulinémie nécessitant une substitution en Ig. Devant la gravité de la présentation initiale de son frère, une greffe de moelle en HLA identique avec son frère vivant est réalisée à l'âge de 4 mois. L'enfant bénéficie d'un traitement immunosuppresseur durant les 6 mois après greffe et par Ig pendant 9 mois post greffe. Deux ans après la greffe, à l'âge de 28 mois, l'enfant va bien. Persistent actuellement les anomalies de la dysplasie ectodermale anhydrotique (cheveux, et dents coniques).

Nous rapportons une nouvelle mutation dans IKBKG entraînant une O-EDA-ID chez deux frères et une IP chez la mère. Ce cas illustre l'absence de corrélation génotype/phénotype dans la O-EDA-ID. La greffe de moelle en HLA identique peut corriger le déficit immunitaire mais peu de cas ont été rapportés. Nous rapportons ici l'efficacité de la greffe de cellules souches hématopoïétiques chez un enfant deux ans après greffe.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P200 - REGRESSION TESTICULAIRE ET ANOMALIES CEREBRALES : UN NOUVEAU SYNDROME ?

TESTICULAR REGRESSION/MENTAL RETARDATION : A NEW SYNDROME ?

G Blanchard (1), R Bouvier (2), P Bretones (3), MP Cordier (4), V Des Portes (1), P Edery (4), L Guibaud (5), A Labalme (4), Y Morel (6), M Rossi (4), D Sanlaville (4), M Till (4), A Vasiljevic (2)

1. Service de Neuropédiatrie, CHU Lyon, Lyon, France
2. Service d'Anatomie Pathologique, CHU Lyon, Lyon, France
3. Service d'Endocrinologie Pédiatrique, CHU Lyon, Lyon, France
4. Centre de référence des anomalies du développement, Service de Cytogénétique Constitutionnelle, CHU Lyon, Lyon, France
5. Service d'Imagerie Pédiatrique et Fœtale, CHU Lyon, Lyon, France
6. Service d'Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares, CHU Lyon, Lyon, France

Nous rapportons l'observation de deux frères présentant un syndrome polymalformatif, caractérisé par une régression testiculaire et une encéphalopathie, qui à notre connaissance n'a pas été décrit dans la littérature médicale à ce jour.

Le patient 1 présente une anomalie du développement des organes génitaux incluant un micropenis sans hypospade et une probable anorchidie à la naissance ; un retard psychomoteur sévère, une spasticité, une épilepsie ; une dysmorphie ; une hypoacousie ; une rétinopathie ; une atrophie cérébrale, une hypoplasie calleuse et des kystes périventriculaires.

La grossesse suivante du couple a été interrompue à 34SA pour une récidive : le fœtus (patient 2) présente un petit bourgeon génital, une atrophie testiculaire ; un corps calleux fin, des anomalies de migration au niveau cérébelleux, une leucoencéphalopathie à tendance cavitaire; un calcanéum discrètement ponctué.

Le bilan étiologique réalisé chez le patient 1, incluant un caryotype, une analyse des télomères, une étude des gènes SRY, SF1, ARX, ATRX, un bilan métabolique exhaustif et une étude de l'inactivation de l'X maternel, est normal.

L'Analyse Chromosomique par Puce à ADN oligonucléotide 105k d'Agilent® a montré la présence d'une petite délétion (17)(q21.33) de 29kb, héritée du père, emportant les gènes NME1 et NME2. Ces gènes sont exprimés dans les cellules germinales pendant la spermatogenèse et dans le système nerveux. Afin d'évaluer leur éventuelle implication dans le tableau observé, nous avons tout d'abord réalisé une analyse de microsatellites qui a montré que l'allèle non délété au locus NME1/2 est le même chez les deux frères atteints. Ce résultat, compatible avec une hérédité récessive autosomique, nous a incité à rechercher l'éventuelle présence d'une mutation des gènes NME1/2 : l'analyse des séquences codantes et des jonctions introns/exons, cependant, n'a pas montré de mutation pathogène. Nous prévoyons de réaliser une étude d'expression, afin d'écarter formellement un rôle étiologique de ces deux gènes.

Le tableau syndromique observé n'a pas été rapporté, à notre connaissance, dans la littérature médicale. Le diagnostic différentiel inclut le syndrome Genitopatellaire (GPS), caractérisé par une hypo/aplasie patellaire, une hypoplasie scrotale, une hypoplasie/agénésie du corps calleux, un retard psychomoteur, des contractures, des anomalies rénales. Les principales différences entre le tableau observé chez les deux frères et le GPS, incluent la présence de rotules strictement normales (patient 1), l'absence d'atteinte rénale et la présence de kystes cérébraux observés chez les deux frères.

Au total, nous rapportons l'étude phénotypique et moléculaire d'un syndrome familial hérité selon un mode récessif autosomique ou lié à l'X, caractérisé par l'association d'une régression testiculaire et d'anomalies cérébrales, non rapporté à ce jour dans la littérature médicale.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P201 - ATAXIE CEREBELLEUSE NON PROGRESSIVE AVEC MYOCLONIES DUE A DES MUTATIONS DU GENE ADCK3 (ARCA2).

M Anheim (1), A Brice (2), P Charles (1), JP Delaunoy (3), D Devos (4), N Drouot (5), A Durr (2), N Kempf (3), M Koenig (3), C Mignot (6), C Moreau (4), C Rastel (1), C Tranchant (7)

1. UF de Génétique Clinique, GH Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. Département de génétique et cytogénétique, GH Pitié Salpêtrière, Paris, France
3. Laboratoire de diagnostic génétique, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France
4. Neurologie A, CHRU de Lille, Lille, France
5. UMR7104, CNRS, Illkirch, France
6. Unité Fonctionnelle de Génétique Médicale, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
7. Service de Neurologie, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France

Des mutations dans le gène ADCK3 (ARCA2 ou CABC1) ont été rapportées chez 17 patients (10 familles) atteints d'une ataxie progressive et syndromique. Les signes neurologiques associaient une atrophie cérébelleuse et, de façon variable, une épilepsie, des myoclonies, une déficience intellectuelle (DI), des lésions de "stroke-like". Tandis que l'atteinte neurologique (ataxie et/ou épilepsie) était nettement progressive dans une des deux premières séries, elle ne l'était pas nettement dans l'autre. La description de la maladie chez 6 patients rapportés par la suite a confirmé la variabilité de l'histoire naturelle. Nous rapportons trois patients porteurs de mutations hétérozygotes dans le gène ADCK3 (ARCA2) qui ont présenté une ataxie cérébelleuse de début précoce (3-15 ans) et restée remarquablement peu invalidante à l'âge adulte.

Chez les trois patients, l'ataxie était le premier signe de la maladie et était associée à 1) une épilepsie partielle dans l'enfance chez le patient #1, 2) des myoclonies du chef chez le patient #2, et 3) une épilepsie, une DI et des myoclonies chez le patient #3. L'épilepsie était bien contrôlée par le traitement chez les deux patients épileptiques et le traitement avait été arrêté sans rechute chez l'un d'eux. L'ataxie était jugée stable depuis toujours par les patients et leurs proches aux âges de 29, 26 et 43 ans, respectivement. L'évaluation fonctionnelle retrouvait un score SARA entre 6 et 8 et un SDFS (spinocerebellar degeneration functional score) égale à 2 correspondant à une gêne modérée (patient capable de courir et de marcher sans limitation) malgré une longue durée d'évolution de 27, 18 et 28 ans. Le séquençage du gène ADCK3 a mis en évidence trois substitutions d'acides aminés hautement conservés (p.Arg299Trp, p.Phe508Ser et p.Gly615Asp), dont deux à l'état homozygote, et une délétion décalant le cadre de lecture (p.Leu453ArgfsX24).

Si l'évolution clinique ultérieure reste imprévisible, le phénotype rapporté chez ces patients suggère une forme non ou très peu progressive d'ataxie. On retrouve une histoire naturelle comparable chez 7 individus de trois familles rapportés dans deux publications précédentes. Les trois patients rapportés ici confirment que des mutations dans ADCK3 sont responsables d'un phénotype d'ataxie cérébelleuse syndromique très peu évolutive, ce qui est exceptionnel pour une ataxie apparaissant lors de ou après l'acquisition de la marche. De plus amples données moléculaires et/ou fonctionnelles sont nécessaires afin de rechercher d'éventuelles corrélations phénotype/génotype.

Ces données suggèrent que la recherche de mutations dans ADCK3 peut être entreprise chez des patients ayant une ataxie non ou très peu progressive débutant dans l'enfance, surtout si elles sont associées à des myoclonies avant même la pratique d'une biopsie musculaire en vue d'un dosage du coenzyme Q10 et de l'étude de la chaîne respiratoire mitochondriale.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P202 - DEFICIT MULTIPLE EN ACYL-COA DESHYDROGENASE (MADD) : UNE ETUDE GENETIQUE, CLINIQUE ET BIOCHIMIQUE DE 10 PATIENTS FRANÇAIS

A Béhin (1), C Acquaviva-Bourdain (2), N Streichenberger (3), S Attarian (4), A Labarre-Vila (5), C Vanhulle (6), A Laquerrière (7), G Bassez (8), L Pérard (9), P Kaminsky (10), O Rigal (11), M Brivet (12), J Pouget (13), B Eymard (14), C Vianey-Saban (2), P Laforêt (14)

1. Centre de Référence de pathologie neuromusculaire Paris-Est, APHP, GH Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. Centre de Référence des Maladies Héréditaires du Métabolisme, Hospices civils de Lyon, Bron, France
3. Service de Neuropathologie, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
4. Centre de Référence des maladies neuromusculaires et de la SLA, APHM, hôpital de la Timone, Marseille, France
5. Centre de Référence Rhône-Alpes des maladies neuromusculaires, CHU de Grenoble, Grenoble, France
6. Centre de compétences pathologies neuromusculaires enfants, Néonatalogie et Réanimation Pédiatrique, CHU de Rouen, Rouen, France
7. Service de neuropathologie, CHU de Rouen, Rouen, France
8. Centre de référence de pathologie neuromusculaire Paris-Ouest, APHP, CHU Henri Mondor, Créteil, France
9. Service de Médecine Interne, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France
10. Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires, CHU de Nancy, Vandoeuvre, France
11. Centre de Référence des Maladies Héréditaires du Métabolisme, APHP, Hôpital Robert Debré, Paris, France
12. Service de biochimie, APHP, CHU de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
13. Centre de Référence des maladies neuromusculaires et de la SLA, APHP, hôpital de la Timone, Marseille, France
14. Centre de référence de pathologie neuromusculaire Paris-Est, APHP, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Le déficit multiple en acyl-CoA déshydrogénase (MADD) est une maladie génétique rare touchant la bêta-oxydation des acides gras. L'affection peut se présenter sous une forme très sévère, de début néonatal, généralement révélées par une atteinte multisystémique, mais aussi sous une forme de début plus tardif essentiellement myopathique. La maladie est due à un déficit soit en une protéine transporteuse d'électrons, soit la flavoprotéine (ETF), soit la flavoprotéine ubiquinone réductase (ETF-QO).

Dix patients (6 femmes et 4 hommes) adultes ont été diagnostiqués en France à ce jour. L'atteinte musculaire est présente chez tous les patients, de sévérité très variable, allant d'une intolérance à l'effort modérée à des formes comportant une rhabdomyolyse inaugurale (2 cas). Aucune atteinte cardiaque n'a été rapportée. L'âge de début moyen des symptômes musculaire était de 31 ans dans cette série. L'analyse des biopsies musculaires montra une lipidose dans 9 cas sur 10, des fibres COX négatives dans 2 cas, et un déficit variable de la chaîne respiratoire dans 5 cas. Dans tous les cas, le diagnostic de MADD fut suggéré par le résultat du profil des acylcarnitines qui montrait une accumulation de toutes les acylcarnitines à chaînes longues. Par contre, la chromatographie des acides organiques urinaires n'était légèrement anormale que chez 5 patients sur 7 testés. L'analyse moléculaire du gène ETFDH retrouva des mutations à l'état hétérozygote composite chez 8 patients ; une seule mutation fut identifiée dans les deux autres cas. Sur le plan thérapeutique, une amélioration très significative fut observée sous carnitine et riboflavine durant les épisodes aigus, mais l'intolérance à l'effort persista, montrant l'importance du développement futur de nouvelles approches thérapeutiques dans cette maladie.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P203 - DETERMINATION D'UN RATIO DES HORMONES THYROÏDIENNES T3/T4 COMME MARQUEUR PREDICTIF DE MUTATION DU GENE MCT8

C Kientz (1), V Herbepin Granados (1), M Lebrun (1), RL Touraine (1)

1. Service de Génétique, CHU de Saint Etienne, Saint Etienne, France

Le tableau clinique du syndrome de Allan Herndon Dudley (OMIM 300523) est bien caractérisé, avec un retard de développement global avec hypotonie, associé à un retard de myélinisation de la substance blanche cérébrale dans la petite enfance, évoluant vers une encéphalopathie sévère avec une spasticité, des mouvements dystoniques et une absence de langage. L'aspect IRM étant alors normalisé, ce tableau clinique perd de sa spécificité. En outre, certains patients ont une atteinte un peu plus modérée avec une acquisition de la marche et d'un peu de langage. Le profil particulier des hormones thyroïdiennes avec une T3 supérieure à la normale, une T4 limite basse ou inférieure à la normale, et une TSH dans la norme, est une aide importante au diagnostic.

Cette affection est à transmission récessive liée à l'X, en rapport avec des mutations du gène MCT8, codant pour un transporteur des hormones thyroïdiennes. De rares cas féminins ont été décrits toutefois.

Nous avons testé plus de 120 patients masculins, la plupart avec une déficience sévère, si ce n'est un tableau très évocateur, pour une mutation de MCT8, sur des prélèvements d'ADN provenant de toute la France, et en plus quelques cas frontaliers.

Les exons codants sont étudiés par DHPL (Transgenomic) et séquençage des profils anormaux.

Au total, nous avons identifié 25 mutations, dont 3 délétions de grande taille. Parmi les mutations ponctuelles, il y a très peu de mutations récurrentes ; les mutations tronquantes ne représentent qu'un tiers des cas, les deux tiers restant étant des mutations faux-sens.

Il n'est pas toujours aisé de déterminer le caractère pathogène de ces changements faux-sens, d'autant que de véritables polymorphismes ont été identifiés sur ce gène. Les prédictions informatiques ont souvent des conclusions différentes selon les logiciels utilisés, et l'enquête familiale est généralement peu informative car il s'agit de petites familles, malgré le fait que seulement 18% des cas soient de novo (mère indemne de la mutation).

Le marqueur biologique le plus caractéristique des mutations de MCT8 est le profil des hormones thyroïdiennes, nous avons donc essayé de définir plus précisément ce profil, à la recherche d'un ratio permettant d'augmenter la probabilité d'identifier une mutation de MCT8.

En pratique, le simple ratio T3L/T4L (pmol/l), lorsqu'il est supérieur à 0,75 permet rétrospectivement d'identifier tous nos patients mutés, avec seulement 4% de "faux positifs" (patients sans mutation identifiée). Ces "faux positifs" sont en cours d'exploration complémentaire. La seule exception que nous avons rencontré est dans la littérature, une famille avec quatre hommes atteints, où le plus âgé (62 ans) a un ratio T3L/T4L à 0,59 alors que les trois autres apparentés ont des ratios de 0,82 à 1,12.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P204 - LE SYNDROME DE GREBE : A PROPOS D'UNE OBSERVATION AVEC UNE MACROCRANIE ET UNE ATTEINTE CEREBRALE

F Maazoul (1), L Ben Jemaa (2), S Hizem (2), M Chaabouni (2), L Kraoua (2), I Ouertani (2), M Trabelsi (2), R Mrad (2), H Chaabouni (2)

1. Service Service des maladies congénitales et héréditaires, hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
2. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

Le syndrome de Grebe est une ostéo-chondrodysplasie non létale. Il est décrit en 1952 par Grebe. Sa prévalence à la naissance est estimée à 5/1000000. Il appartient au groupe des dysplasies acromésoméliques. Il est transmis selon le mode autosomique récessif. Le gène responsable de cette entité est nommé CDMP-1 pour cartilage-derived morphogenetic protein-1, il est localisé sur le chromosome 20q11.2.

Nous rapportons une nouvelle observation de ce syndrome qui se distingue par une atteinte crânienne et cérébrale non décrite auparavant. En effet, il s'agit d'une fille âgée de 5 mois. Elle est abandonnée par ses parents. Elle présente un nanisme disharmonieux (poids : -3Ds, taille :-7Ds, périmètre crânien : +7Ds), une oligodactylie (4 orteils) du pied gauche et un aspect globuleux et bulbeux des doigts et des orteils. Le bilan osseux objective une agénésie des 2 cubitus et des os des 2 jambes. L'échographie trans-fontanellaire montre un hygrome, une dilatation des ventricules latéraux et une hypoplasie des lobes frontaux. Son caryotype est 46, XX.

Le conseil génétique pour cette entité est donné sur la base d'une transmission autosomique récessive. Le risque de récurrence est par conséquent de 25%. Le diagnostic prénatal se base sur le suivi

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P205 - MYOPATHIES SECONDAIRES A DES MUTATIONS DU GENE DE L'ANOCTAMINE 5 (ANO5) : CARACTERISTIQUES PHENOTYPIQUES

A Béhin (1), P Laforêt (2), M Cossée (3), N Deburgrave (4), K Wahbi (5), HM Bécane (6), L Orhant (4), T Stojkovic (2), JC Kaplan (4), F Leturcq (4), B Eymard (2)

1. Centre de Référence de pathologie neuromusculaire Paris-Est, APHP, GH Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. Centre de référence de pathologie neuromusculaire Paris-Est, APHP, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Laboratoire de biochimie et génétique moléculaire, GH Cochin, Paris, France
4. Laboratoire de biochimie et génétique moléculaire, APHP, GH Cochin, Paris, France
5. Centre de référence de pathologie neuromusculaire Paris-Est, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
6. Centre de référnece de pathologie neuromusculaire Paris-Est, APHP, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Le déficit en anoctamine 5 a été récemment décrit comme une cause de myopathie des ceintures (LGMD2L) et de myopathie distale ressemblant la forme de Miyoshi, mais sans déficit en dysferline (MMD3). Les données de la littérature concernant cette myopathie de transmission autosomique récessive sont cependant encore limitées. Nous présentons ici les caractéristiques phénotypiques cliniques, biologiques et d'imagerie d'une série de 23 patients français issus de 20 familles distinctes.

L'âge de début des troubles est variable, autour de la trentaine chez les patients déficitaires. Le sex ratio est de 3.6 (18 hommes pour 5 femmes). La présentation clinique diffère d'un patient à l'autre, y compris dans une même fratrie pour une famille : 8 patients (35% des cas) ont développé un déficit des ceintures (LGMD2L), prédominant généralement au niveau quadricipital, 6 patients (23% des cas) se présentaient comme une myopathie distale (MMD3), un patient présentait une atteinte proximodistale d'emblée. Quatre patients (17% des cas) présentaient des CPK isolées, et quatre autre un tableau pseudo-métabolique caractérisé par une intolérance à l'effort (17% des cas). Trois patients présentent une cardiomyopathie dilatée modérée, sans coronaropathie sous-jacente. Aucun patient n'est ventilé à ce jour. L'évolution de la myopathie est très progressive. CPK sont comprises entre 686 et 25000 UI/l, et dans la plupart des cas supérieures à 2000 UI/l. Sur le plan de l'imagerie, les patients présentent une atteinte généralement précoce des gastrocnémiens médiaux. Les muscles les plus affectés au niveau des cuisses sont les adducteurs, les ischiojambiers (biceps femoris et demi-membraneux plus que semi-tendineux) et les quadriceps, de manière généralement asymétrique. A la biopsie, les patients présentaient des lésions de type dystrophique sans anomalie de la dysferline.

Au total, cette myopathie présente donc des caractéristiques proches de celles observées dans les dysferlinopathies, mais avec une présentation plus tardive et asymétrique et une évolution plus lente. Si elle se confirme, l'existence d'une cardiopathie dilatée serait également un trait distinctif du déficit en anoctamine 5, qui apparaît déjà comme l'une des causes majeures de dystrophies non résolues, puisqu'elle est à l'origine dans notre expérience de 25% des cas suivis à l'Institut de Myologie.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P206 - HYPERLIPOPROTEINEMIE FAMILIALE TYPE IIA (AVEC MUTATION G622C A L'ETAT HOMOZYGOTE) REVELEE PAR UNE XANTHOMATOSE CUTANEE
FAMILIAL HYPERLIPOPROTEINEMIA TYPE IIA (WITH HOMOZYGOUS G622C MUTATION) REVEALED BY CUTANEOUS XANTHOMATOSIS

N Serbati (1), D Nsame (2), A Chadli (2), K Hamzi (1), S Nadifi (1)

1. Laboratoire de génétique médicale, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc
2. Service d'Endocrinologie et Diabétologie et Maladies métaboliques, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc

L'hypercholestérolémie familiale de type IIa (HF-IIa) est une maladie métabolique rare d'expression systémique, caractérisée par une augmentation exclusive des lipoprotéines de basse densité (LDL). Elle s'associe à un risque élevé de complications cardio-vasculaires ainsi que d'autres signes cliniques tels que l'apparition de xanthomes cutanés qui peuvent en être le signe révélateur.

L'HF-IIa est d'origine génétique, de transmission autosomique dominante. Elle fait intervenir trois gènes : le gène du récepteur aux LDL (LDLR), le gène de l'aplipoprotéine B (APOB) et le gène proprotein convertase subtilin/kexin type (PCSK9).

Nous rapportons le cas de deux frères issus de mariage consanguin et qui présentent une xanthomatose cutanée. L'étude génétique chez l'un des patients a révélé l'existence à l'état homozygote de la mutation G266C au niveau de l'exon 6 du gène LDLR qui est une mutation spécifique à la population marocaine.

Mots clé : Dyslipidémie, gène LDLR, Hypercholestérolémie familiale, xanthome cutané

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P207 - SYNDROME DE MARFAN DANS UNE FAMILLE MAROCAINE: EXPRESSIVITE VARIABLE ET CONSEIL GENETIQE

MARFAN SYNDROME IN A MOROCCAN FAMILY : VARIABLE EXPRESSIVITY AND GENETIC COUNSELING

N Serbati (1), S Nassereddine (1), H DEHBI (1), S Nadifi (1)

1. Laboratoire de génétique médicale, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc

Le syndrome de Marfan est une maladie héréditaire du tissu conjonctif. De diagnostic difficile, sa fréquence est estimée autour de 1/5000 individus. Des critères diagnostiques ont été établis sur la base de signes cliniques majeurs et / ou mineurs. L'atteinte est principalement musculo-squelettique, oculaire et cardiaque. La prise en charge se doit d'être multidisciplinaire.

Le syndrome de Marfan est une fibrillinopathie de transmission autosomique dominante, due à un défaut de synthèse de la fibrilline-1 (codée par le gène FBN1). Il existe une grande variabilité intra-familiale de l'expression d'une même mutation.

Nous rapportons le cas de syndrome de Marfan au sein d'une famille marocaine dans laquelle il existe 10 personnes atteintes sur 3 générations et chez qui les tableaux cliniques sont très variables (allant de la grand taille jusqu'à l'atteinte cardiaque) ce qui rend le conseil génétique encore plus difficile.

Mots clé : Syndrome de Marfan, autosomique dominant, expressivité intra-familiale variable, conseil génétique

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P208 - ETUDE CLINIQUE ET MOLECULAIRE DES AMELOGENESES IMPARFAITES

A BLOCH-ZUPAN (1), MC MANIERE (1), A LOING (1), F CLAUSS (1), AL GARRET (1), X JAMET (1), E KARAYIGIT (1), S TROESTER (1), E FEISTHAMMEL (1), B RICHARD (2), JJ MORRIER (2), C TARDIEU (3), MC MULLER-BOLLA (4), MM ROUSSET (5), JL SIXOU (6), JL HEMMERLE (7), JY SIRE (8), C STOETZEL (9), H DOLLFUS (9)

1. Centre de référence des manifestations odontologiques de maladies rares, Service de Médecine et Chirurgie buccale, Hôpitaux Universitaires Strasbourg, Faculté de Chirurgie Dentaire, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Service d'Odontologie, Hospices Civils de Lyon, Faculté d'Odontologie, LYON, France
3. Service d'Odontologie, Faculté d'Odontologie, Hôpital la Timone, Marseille, France
4. Département Santé Publique, Pôle Universitaire St Jean d'Angely, Nice, France
5. Service d'Odontologie, Faculté de Chirurgie Dentaire, CHU, Centre Abel Caumartin, Université de Lille II, Lille, France
6. Centre de Soins Dentaires, CHU et Faculté de Chirurgie Dentaire, Rennes, France
7. INSERM UMR 977 "Biomatériaux et ingénierie tissulaire", Faculté de Chirurgie Dentaire, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
8. Equipe « Evolution et développement du squelette », UMR 7138, Université Pierre & Marie Curie-Paris 6, Paris, France
9. Laboratoire de Physiopathologie des syndrome rares héréditaires Equipe EA3949 INSERM AVENIR, Université de Strasbourg, Faculté de Médecine, Strasbourg, France

Les amélogenèses imparfaites (AI) représentent un groupe hétérogène dans l'expression clinique et le mode de transmission de pathologies affectant la formation/minéralisation de l'émail. Ces maladies rares se traduisent par une atteinte de l'émail soit quantitative ou hypoplasique, soit qualitative ou hypominéralisée/hypomature. Les AI concernent non seulement des protéines de structure de l'émail mais aussi des enzymes, des facteurs de transcriptions et des protéines impliquées dans le métabolisme phosphocalcique. Les gènes impliqués à ce jour sont AMEL, ENAM, KLK4, MMP20, FAM83H, WDR72, FAM20A, DLX3. D'autres gènes candidats ont été proposés sur la base de leur expression dans les améloblastes : l'améloblastine, la tufteline, l'amélotine mais cette liste n'est pas exhaustive et de nombreux gènes responsables d'AI ne sont pas encore connus.

Les AI participent au tableau clinique des syndromes : AI hypoplasiques et néphrocalcinose ; AI et atrophie des cônes et des bâtonnets (CNNM4); AI et platispondylie ; AI, taurodontisme, cheveux bouclés et os sclérotiques dans le syndrome tricho-dento-osseux (DLX3) ; AI, épilepsie et retard mental dans le syndrome de Kohlschütter-Tonz ; AI et onycholyse terminale ; AI, leukonychie et surdité neurosensorielle (syndrome de Heimler) ; AI, carcinome neuroendocrine des glandes salivaires, surdité neurosensorielle.

Objectifs et stratégies Le PHRC N 2008 – HUS N°4266 est une étude sans bénéfice direct, qui a pour objet de combiner une étude clinique et une étude moléculaire afin de préciser les contours cliniques de ces maladies et d'envisager des corrélations phénotype/génotype. Les données sont rassemblées dans la base de données D[4]/phenodent (www.phenodent.org). Les patients sont adressés aux services de génétique médicale partenaires. Des prélèvements salivaires et ou sanguins constituent la base d'une DNAthèque. Le phénotype clinique est complété par une analyse anatomopathologique ultrastructurale (Equipe INSERM U977, J. Hemmerle) des tissus dentaires disponibles.

L'étude moléculaire est abordée par l'analyse évolutive moléculaire avec J.Y. Sire, UMR 7138. Cette méthode permet de prédire, à partir d'une base de données de séquences construite dans un contexte évolutif, les maladies génétiques associées à des mutations. Pour les familles informatives des études moléculaires visant à localiser puis identifier de nouveaux gènes sont réalisées au Laboratoire de Physiopathologie des syndrome rares héréditaires (Equipe d'Accueil, EA 3949 H. Dollfus) de Strasbourg.

Conclusions Ce travail précise les contours cliniques et moléculaires des AI, pour en améliorer le diagnostic, la compréhension physiopathologique et la prise en charge.

Nous sollicitons votre aide et collaboration pour le recrutement des patients et de leurs familles.

Merci de contacter agnes.bloch-zupan@unistra.fr

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P209 - CAMTA1 : UN NOUVEAU GENE DOMINANT D'ATAXIE CONGENITALE ET DE DEFICIENCE INTELLECTUELLE LEGERE

J Thevenon (1), E Lopez (2), B Keren (3), C Mignot (3), D Heron (3), C Altuzara (4), L Gallagher (5), E Magnien (6), M Beri-Dexheimer (7), J Vigneron (8), S Morle (4), D Minot (1), M Bordes (1), B Haffen (6), C Mach (9), D Doummar (10), L Burglen (10), M Bonnet (11), L Gueneau (2), L Duplomb (12), P Callier (13), V Carmignac (2), AL Mosca-Boidron (14), V Roze (15), P Jonveaux (7), L Faivre (16), C Thauvin-Robinet (17)

1. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France
2. Equipe émergente GAD « Génétique et Anomalies du Développement », Université de Bourgogne, Faculté de Médecine, Dijon, France
3. Département de Génétique et Cytogénétique et Centre de référence 'déficiences intellectuelles de causes rares', CRicm, UMR-S975, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Neuropédiatrie, CHU de Besançon, Besançon, France
5. Departement of Genetics, Trinity College, Dublin, Irlande
6. Neurologie, CHU de Besançon, Besançon, France
7. Département de Génétique, CHU de Nancy, Nancy, France
8. Neuropédiatrie, CHU de Nancy, Nancy, France
9. Département de Génétique, La Pitié Salpétrière, APHP, Paris, France
10. Département de neuropédiatrie, Hôpital Armand Trousseau, APHP, Paris, France
11. Centre de Référence des Troubles du Langage et des Apprentissages, CHU de Dijon, Dijon, France
12. 10 Equipe émergente GAD « Génétique et Anomalies du Développement », IFR Santé STIC, Université de Bourgogne, Dijon, France
13. Cytogénétique, CHU Dijon, Dijon, France
14. Cytogénétique, CHU Dijon, Dijon, France
15. Laboratoire de Biologie Moléculaire, CHU Besançon, Besançon, France
16. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», , Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, dijon, France
17. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, CHU de Dijon, Dijon, France

L'identification de gènes responsables des formes isolées ou syndromiques d'affections hétérogènes sur le plan génétique, telles que la déficience intellectuelle ou les ataxies congénitales a été récemment simplifiée par les technologies de haut débit comme la CGH-array haute résolution ou le séquençage haut débit.

Grâce à l'analyse chromosomique sur puce ADN, nous avons identifié des réarrangements du gène CAMTA1 (CAlmodulin-binding Transcription Activator 1). Quatre variations du nombre de copies ont été diagnostiquées : 3 délétions et 1 duplication intragéniques, impliquant le domaine protéique CG-1, ségrégeant dans 3 familles de DI légère, de transmission dominante autosomique, et une patiente sporadique avec ataxie congénitale sans DI et IRM cérébrale normale. Du fait de ce phénotype, une réévaluation neurologique des premiers patients a finalement mis en évidence une ataxie cérébelleuse chez les patients réexaminés.

Les réarrangements identifiés chez les patients avec DI sont prédits pour conduire à la production d'une protéine tronquée, alors que la délétion de la patiente sans DI reste en phase. L'étude de transcrits réalisée dans une famille de DI a montré un décalage du cadre de lecture à l'origine d'une protéine tronquée. Le séquençage direct du domaine CG-1 dans une cohorte de 200 patients avec une DI isolée, familiale ou sporadique, une ataxie congénitale ou l'association des 2, et un séquençage complet du gène de CAMTA1 chez 100 de ces patients, n'a pas permis de mettre en évidence de mutation pathologique. De nombreuses données soutiennent l'implication de CAMTA1 dans ce spectre phénotypique : CAMTA1 est exprimé spécifiquement dans le cortex cérébral et le cervelet pendant le développement et à l'âge adulte ; CAMTA1 est un facteur de transcription calcium-dépendant comme d'autres gènes impliqués dans la DI ; il régule la transcription de gènes codant pour des protéines impliquées dans la DI ; les réarrangements décrits concernent la région très conservée du domaine CG-1 indispensables aux fonctions connues de la protéine ; les études sur la Drosophile suggèrent un rôle de CAMTA1

dans les fonctions supérieures des mammifères ; aucun réarrangement impliquant ce gène n'a été décrit chez des sujets contrôles (base de données DGV).
L'identification de réarrangements du gène CAMTA1 dans ces 4 familles, et les données fonctionnelles de la littérature, supportent l'implication du gène CAMTA1 dans un spectre phénotypique autosomique dominant allant de l'ataxie congénitale isolée à la DI légère, associée ou non à une ataxie.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P210 - IMPLICATION D'UN GENE DU SPLICEOSOME DANS UN CAS DE DEFICIENCE MENTALE SEVERE ?

O Perche (1), A Menuet (2), V Cacheux-Rataboul (3), D Lacombe (4), L Baala (1), B Laudier (1), M Ardourel (2), S Mortaud (2), M Fauconnier (2), B Hebert (2), C Montecot-Dubourg (2), O Richard (2), J Pichon (2), S Briault (1)

1. Génétique Chromosomique, Centre Hospitalier Régional D'Orléans, Orléans, France
2. Equipe Neurogénétique, UMR6218 - IEM - CNRS, Orléans, France
3. Human Genomic, Genome Insitute of Singapore, Singapour, Singapour
4. Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France

La déficience mentale (DM) se définit par un quotient intellectuel inférieur à 70 associé à un déficit fonctionnel du comportement adaptatif apparu avant l'âge de 18 ans (American Psychiatric Association, 1994). Sa prévalence est estimée à 1- 3% de la population mondiale et ses étiologies sont extrêmement hétérogènes. Cependant, 25 à 50% des DM sévères sont d'origine génétique.

Les réarrangements chromosomiques équilibrés de novo sont associés à un risque croissant de DM ou de malformations congénitales, ce qui suggère que le phénotype observé est causé par la suppression, la perturbation ou l'inactivation d'un ou plusieurs gène(s) dans les régions des points de cassure. C'est grâce à l'étude de tels remaniements chromosomiques que de nombreux gènes de DM ont été identifiés.

Nous rapportons ici l'analyse moléculaire de la translocation réciproque équilibrée [46, X, t (X; 3) (p22 ; q13)] de novo portée par une fillette qui présente une déficience mentale sévère et une dysmorphie faciale. Une étude par approche « whole genome sequencing » s'est révélée non informative, le point de cassure du chromosome 3 étant situé en territoire centromérique répété. L'analyse pangénomique par puce haute résolution Affymetrix (SNP6.0 GenomeWide Human) nous a permis d'exclure l'existence de remaniements chromosomiques significatifs pouvant être à l'origine du phénotype. L'analyse transcriptomique par puce Affymetrix (Human EXON1.0) objectivait la dérégulation de l'expression de nombreux gènes. Parmi ces gènes, la baisse du taux de transcrit de gènes de déficience mentale, tels que FMR1 (syndrome de l'X fragile), CRBN (DM héréditaire), MECP2 (Syndrome de Rett) ou encore KCNMA1 (DM et autisme) expliquent le phénotype DM de la fillette porteuse du remaniement. De plus, cinq gènes se trouvent sous-exprimés dans la région de point de cassure Xp22. Parmi eux, un gène code pour une sous-unité régulatrice du complexe permettant la transcription génique, le spliceosome. Les anomalies transcriptionnelles multiples observées résultent donc probablement de cette anomalie.

Cependant, à ce jour nous sommes encore dans l'incapacité de choisir entre une anomalie primaire de ce gène, liée au point de cassure Xp22, ou une anomalie secondaire ayant pour conséquence une dérégulation transcriptionnelle entrainant une déficience mentale.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P211 - SYNDROME FG : LE LOCUS FGS2 REVISITE.

O Perche (1), A Menuet (2), F Laumonnier (3), L Baala (1), S Briault (1)
1. Génétique Chromosomique, Centre Hospitalier Régional D'Orléans, Orléans, France
2. Equipe Neurogénétique, UMR6218 - IEM - CNRS, Orléans, France
3. UMR « Imagerie et Cerveau », INSERMU930-CNRS-ERL3106, Tours, France

Le syndrome FG (MIM 305450) est une déficience mentale syndromique liée au sexe associant une hypotonie congénitale, un retard mental, une constipation et/ou des anomalies anales, et une dysmorphie faciale. Génétiquement hétérogène, cinq loci ont été décrits et deux gènes caractérisés (MED12 et FGS1, CASK et FGS4). Par ailleurs, le locus FGS5 s'est révélé être associé à une microduplication.

Il en est de même pour le locus FGS2 identifié à partir d'une inversion paracentrique du chromosome X [46, Y, inv(X)(q11q28)] avec microduplications associées au niveau des deux points de cassure. Par une approche puces « BACs », la taille de ces duplications avait été caractérisée : 360 kb en Xq11 et 230 kb en Xq28. Cependant, ce résultat n'est qu'indicatif, la résolution de cette approche étant limitée.

Nous rapportons ici les résultats de l'étude des variations génomiques et transcriptomiques des zones d'intérêts avec des puces Affymetrix haute résolution (SNP6.0 GenomeWide Human et Human EXON1.0)

Les duplications précédemment décrites portent sur une région de 583 kb en Xq11.2 et de 608 kb sur Xq28. A cette duplication « Xq28 » est associée une triplication de 55kb qui contient le gène TKTL1 et les 5 derniers exons du gène FLNA. Ce sont au total 19 gènes qui sont concernés par cette duplication.

Par ailleurs, l'étude des profils d'expression de ces gènes montre que seulement 9 des 19 gènes sont significativement dérégulés. Parmi eux, MECP2 et FLNA, sont particulièrement intéressants. En effet, MeCP2 est nécessaire à la maturation des neurones et sa duplication a été décrite chez des garçons retardés. Quant à la Filamine A (FLNA), elle participe à la migration neuronale et des mutations du gène sont associées à des pathologies syndromiques graves.

Il semble donc que la forme FGS2 du syndrome FG soit la résultante d'une anomalie complexe avec effet additif des différentes anomalies géniques.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P212 - CAPN3 MRNA PROCESSING ALTERATION CAUSED BY SPLICING MUTATION ASSOCIATED WITH NOVEL GENOMIC REARRANGEMENT OF ALU ELEMENTS

F FAKHFAKH (1), I HADJ SALEM (1), H KENOUN (1), N MEZGHANI (1), Ch TRIKI (2)

1. Laboratoire de génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Service de pédiatrie Neurologique, C.H.U Hedi Chaker, Sfax, Tunisie

Recessive mutations of CAPN3 gene are reported to be responsible for LGMD2A. 15-25% of intronic nucleotide changes identified in this gene were investigated by in silico analysis but occasionally supported by experimental data or reported in some cases as a polymorphism. We report here genetic and transcriptional analyses in three Tunisian patients belonging to the same consanguineous family sharing the same mutation c.1194-9 A>G and Alu repeats insertion in intron 7 of CAPN3 gene. RT-PCR experiments performed on total RNA from the patient's muscle biopsy showed retention of the eight last nucleotides of intron 9 in the CAPN3 transcript lacking the first seven exons. Our results provide evidence regarding the potential involvement of Alu elements in aberrant processing of pre-mRNA owing to the disruption of pre-existing intronic splicing regulatory elements. We also demonstrated variable mRNA alternative splicing among tissue and between LGMD2A patients. A Deep intronic variation and rearrangement have been reported in the literature as causing human genetic diseases. However, this is the first report on a potential pathogenic CAPN3 gene mutation resulting from an Alu insertion.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P213 - XERODERMA PIGMENTOSUM DE TYPE C : A PROPOS DE 31 CAS

S Hadj-Rabia (1), D Oriot (2), H Dufresne (3), N Soufir (4), C Bodemer (5)

1. Service de Dermatologie, Centre de référence MAGEC, unité INSERM781, Hôpital Necker-Enfants Malades, université Descartes Paris V, Paris, France
2. Service de Pédiatrie, Hôpital la Milletrie, Poitiers, France
3. Service de Dermatologie, Centre de référence MAGEC, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. Service de Biochimie, Hôpital Bichat, Paris, France
5. Service de Dermatologie, Centre de référence MAGEC, unité INSERM 781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Descartes Paris V, Paris, France

Le xeroderma pigmentosum (XP) est une génodermatose rare caractérisée par un défaut génique dans la synthèse de l'une des protéines du système d'excision réparation des nucléotides. Cette anomalie est responsable des manifestations cutanées oculaires et neurologiques décrites au cours des 8 formes de XP. A partir d'une cohorte de 31 patients, nous rapportons des manifestations méconnues conduisant à moduler la surveillance.

Patients et Méthodes

Tous les patients atteints de XP-C (mutation identifiée ou test de réparation, ou UDS, anormal) ont été revus sur le plan clinique.

Résultats

Entre octobre 2008 et janvier 2010, 31 patients (13F/18G) ont été revus. Vingt six avaient une mutation dans le gène XPC ; les 5 autres un UDS anormal. En moyenne , ils avaient 11 ans (1-25,5) à cette visite ; 2,95 ans (0,08-9) au moment du diagnostic. Les premières manifestations étaient apparues à 1,49 ans (0,5-3). Etaient constatés une photophobie (n=12), un syndrome pyramidal (n=16). Des lésions cutanées cancéreuses (n=24), apparues en moyenne à l'âge de 4,76 ans (2-14,5) étaient : Carcinomes spinocellulaire (n=30, 35 lésions au total) et/ou basocellulaire (n= 19 ; 160 lésions), mélanome (n=6 ; 10 lésions). Dans les formes familiales, aucun carcinome cutané n'était encore constaté l'âge de 7 ans chez le second apparenté atteint. Les cancers extracutanés étaient : CBC cornéen (n=3) ; carcinome du col de l'utérus (n=1), adénocarcinome rénal (n=1), leucémie lymphoblastique (n=1). Une thyroide multinodulaire, avec euthyroidie, était découverte (n=5).

Discussion

Cette série originale par l'importance de son échantillon homogène, permet de souligner au cours des XP-C

- des éléments épidémiologiques : âge des premières manifestations et du diagnostic, fréquence des CBC et type du mélanome.
- La fréquence de manifestations cliniques inattendues : syndrome pyramidal (51,6%), habituellement non décrit au cours du XP-C thyroïde multinodulaire non goitreuse de l'enfant (n=5).
- L'importance de la photoprotection : chez les enfants XP-C puinés, le carcinome cutané est plus tardif.

Ces résultats justifient d'élargir la surveillance clinique du XP-C (thyroïde) et d'inclure cette forme de XP dans le cadre des XP à manifestations neurologiques comme le XP-A. Enfin, la photoprotection rigoureuse reste essentielle et les programmes d'éducation thérapeutique ont une place essentielle dans cette prise en charge.

Mots clefs : xeroderma pigmentosum type C, atteinte neurologique, photoprotection

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P214 - MUTATIONS IN LAMA2 AND CAPN3 GENES ASSOCIATED WITH GENETIC AND PHENOTYPIC HETEROGENEITIES WITHIN A SINGLE CONSANGUINEOUS FAMILY INVOLVING BOTH CONGENITAL AND PROGRESSIVE MUSCULAR DYSTROPHIES

F FAKHFAKH (1), I HADJ SALEM (1), N LOUHICHI (1), M MZIOU (2), Ch TRIKI (2)

1. Laboratoire de génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Service de pédiatrie Neurologique, C.H.U Hedi Chaker, Sfax, Tunisie

Limb girdle muscular dystrophy (LGMD) and congenital muscular dystrophy (CMD) are two common forms of neuromuscular disorders which are distinguishable by their age of onset but with probably similar underlying pathway. In this study, we report the immunohistochemical, western blot and genetic analyses in a large consanguineous Tunisian family with two branches including seven patients sharing similar LGMD2 phenotype in one branch and one CMD patient in the second. Linkage analyses were compatible with the LGMD2A locus in one family branch and with MDC1A locus in the other one. This result was supported by deficiency in merosin and calpain3 in the CMD patient and LGMD patients respectively. Mutation analysis revealed two distinct mutations: a c.8005delT frameshift deletion in exon 56 of the LAMA2 gene (MDC1A) was found in the CMD patient and a new homozygous mutation c.1536+1G>T in the donor splice site of intron 12 of the CAPN3 gene (LGMD2A) was found in the LGMD patients. RT-PCR performed on total RNA from a LGMD2A patient's muscle biopsy showed a complete retention of intron 12 in CAPN3 cDNA generating a premature termination codon which potentially elicits the nonsense mRNA to degradation by NMD (Non sense-mediated mRNA decay). Our data indicate that mRNA analysis is necessary to clarify the primary effect of genomic mutations on splicing efficiency that alters mRNA processing and expression level.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P215 - DEVELOPPEMENT D'UNE ATTEINTE HEPATIQUE NEONATALE SEVERE CHEZ UN PATIENT ATTEINT DE SYNDROME DE SIMPSON-GOLABI-BEHMEL

B Demeer (1), D Djeddi (2), G Jedraszak (3), G Morin (4), R Rhazalane (5), S Lanta (6), M Raynaud (7), F Lacaille (8), M Mathieu (3)

1. Génétique Clinique, departement de Pédiatrie, CHU Amiens, amiens, France
2. Gastroenterologie pédiatrique, departement de pédiatrie, chu, amiens, France
3. Génétique Clinique, departement de Pédiatrie, chu, amiens, France
4. Génétique Clinique, departement de Pédiatrie, CHU, amiens, France
5. Soins intensifs et réanimation néonatale, departement de pédiatrie, chu, amiens, France
6. gynécologie-Obstetrique, chu, amiens, France
7. génétique moléculaire, chu, Tours, France
8. gastroenterologie pédiatrique, Hopital Necker Enfants Malades, amiens, France

La période prénatale du patient a été marquée par la découverte à l'échographie de 22 SA (semaines d'amenorrhées) d'un hydramnios associé à une macrosomie fœtale chez un fœtus de sexe masculin, en l'absence de diabète gestationnel maternel. Le suivi échographique nota par la suite dès 27 SA l'association à une nephromégalie bilatérale.

Il est né par césarienne à 38 SA, avec les paramètres de naissance suivants : PN : 4k105, TN : 52 cm, PCN : 37 cm, score d'apgar 10,10. A l'examen, il présentait une hypotonie globale, des difficultés alimentaires et une ictère cutané. Une dysmorphie faciale avec traits épaissis, hypertélorisme, antéversion narinaire et macrostomie était notée, associée au niveau abdominal à 3 mamelons surnuméraires et à un diastasis des grands droits. Les extrémités étaient sans particularités. Il n'existait pas d'hypoclycemie néonatale. Les échographies postnatales confirmèrent la nephromégalie bilatérale et notèrent à 2 semaines de vie, une hepatomégalie. Le bilan biologique retrouva une cytolyse hépatique associée à une cholestase.

L'étude du gène GPC3 a mis en évidence une délétion d'une base au sein de l'exon 7 -c.662delA-, confirmant le diagnostic de syndrome de Simpson-Golabi-Behmel (SGBS).

L'évolution a été marquée par la découverte et la progression rapide d'une fibrose hépatique, associée au développement d'une insuffisance hépatique et d'une hypertension portale avec dès l'âge de 10 mois, nécessité de ligatures de varices œsophagiennes et traitement prophylactique par Beta- bloquant.

En période néonatale, hormis une viscéromégalie fréquemment retrouvée, une atteinte hépatique est rarement associée au SGBS et à notre connaissance, ce patient présente le premier cas rapporté de cirrhose hépatique. Les différentes données hépatiques seront exposées et comparées à la littérature.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P216 - ETUDE GENETIQUE DU COMPLEXE CANALAIRE CALCIQUE CARDIAQUE CAV1.2 DANS UNE POPULATION DE PATIENTS ATTEINTS DE DIVERSES ARYTHMIES.GENETIC STUDY OF CARDIAC CALCIUM CHANNEL COMPLEX CAV1.2 IN PATIENTS WITH CARDIAC ARRHYTHMIAS.

C CARDIN (1), D KATTYGNARATH (2), M BERTHET (2), I DENJOY (3), P MAURY (4), A LEENHARDT (3), P GUICHENEY (2)
1. Inserm-UPMC UMR_S 956 Génétique, Pharmacologie et Physiopathologie des Maladies Cardiovasculaires, Faculté de médecine Pierre et Marie Curie Site de la Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
2. Inserm-UPMC UMR_S 956 Génétique, Pharmacologie et Physiopathologie des Maladies Cardiovasculaires, Faculté de médecine Pierre et Marie Curie Site de la Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
3. Service de Cardiologie, Hôpital Lariboisière (AP-HP), PARIS, France
4. Départment de Cardiologie, CHU Rangueil Toulouse, Toulouse, France

Background
Voltage gated calcium channel Cav1.2 complex is essential to cardiac physiology as the major actor in electromechanical coupling. Mutations in the genes encoding its subunits (alpha CACNA1C, beta CACNB2, and delta CACNA2D1) have been identified in various channelopathies: Timothy Syndrome, Brugada Syndrome (BrS), short QT, early repolarisation syndrome (ERS), and idiopathic ventricular fibrillation (IVF).
Objective
The purpose of this study was to perform genetic screening of CACNA1C, CACNB2, and CACNA2D1 in patients with arrhythmias to identify novel causal mutations.
Methods and results
Mutational screening of CACNA1C (53 exons), CACNB2 (13 exons), and CACNA2D1 (40 exons) was performed by high resolution melting (HRM) and direct DNA sequencing. The studied population was composed by 49 patients : 29 with BrS and relatively short QTc (QT corrected for heart rate) ranging from 325 to 370 ms, 7 with short QT syndrome (QTc inferior to 330 ms), 6 with ERS and 12 with IVF. Eleven novel variants were identified, 10 in CACNA1C and one in CACNB2. Among these variants, two missense mutations, absent in 300 unrelated controls were found in the C-terminal domain of CACNA1C in conserved domains, one in a patient with ERS and the other in a patient with IVF. The molecular and cellular mechanisms by which these variants alter the function of the calcium channel Cav1.2 will be further elucidated after heterologous expression of the WT and mutants.
Conclusion and perspective
This study does not identify mutations in the 24 BrS patients but provides two novel CACNA1C variants, one associated with IVF, and the other for the first time in this subunit with ERS. Presence of mutations in Cav1.2 subunits in more than 10% of the symptomatic patients with IVF and ERS should be confirmed by additional studies.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P217 - UNE DELETION ATYPIQUE DE LA REGION DU SYNDROME DE WILLIAMS-BEUREN COMPRENANT LES GENES ELN ET LIMK1

B Demeer (1), S Chenichene (2), A Receveur (3), G Morin (4), FM Caron (5), A De Broca (6), H Copin (3), O Godefroy (7), M Mathieu (8), D Sanlaville (9), P Saugier-Veber (10)

1. Génétique Clinique, departement de Pédiatrie, CHU Amiens, amiens, France
2. cardiologie pédiatrique, département de pédiatrie, chu, amiens, France
3. cytogenetique-centre biologie de la reproduction, chu, amiens, France
4. Génétique Clinique, departement de Pédiatrie, CHU, amiens, France
5. cardiologie pédiatrique, département de pédiatrie, chu amiens, amies, France
6. neurologie pediatrique, chu, amiens, France
7. neurologie, chu, amiens, France
8. Génétique Clinique, departement de Pédiatrie, chu, amiens, France
9. Cytogénétique – Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices civils, lyon, France
10. cytogenetique moleculaire, chu, rouen, France

Le syndrome de Williams-Beuren (WBS, OMIM 194050) est une anomalie de développement multisystemique d'origine embryonnaire liée à la délétion hemizygote d'un segment chromosomique en 7q11.23, s'étendant de 1.55Mb à 1.8 Mb, et incluant 28 gènes. Un petit nombre d'individus présente de plus petites délétions de cette région, et le phénotype associé varie alors d'un syndrome de sténose supravalvulaire aortique (SVAS, OMIM 185500) au phénotype classique de WBS.

Nous rapportons une famille, une mère et 3 de ses enfants, avec une sténose supravalvulaire aortique de transmission autosomique dominante dominante. La mère présente une sténose supravalvulaire aortique, une dysmorphie faciale et une anxiété importante ; durant l'enfance, elle présentait également des difficultés scolaires associées à une impulsivité et à des difficultés attentionnelles. Ses 2 fils ont bénéficié d'une cure chirurgicale de hernie inguinale bilatérale, ont une calcémie normale et sont porteurs d'une anomalie cardiovasculaire : le cadet, âgé de 5 ans, a une sténose supravalvulaire aortique et des branches pulmonaires, une stenose mésentérique, cœliaque, rénale; l'aîné, âgé de 10 ans, a une sténose supravalvulaire aortique et pulmonaire. Ils ne présentent pas la dysmorphie faciale classique associée au WBS; au niveau comportementale, un trouble déficitaire de l'attention et hyperactivité est notée. Chez la plus jeune sœur,le diagnostic de sténose supravalvulaire aortique et pulmonaire, nécessitant une prise en charge chirurgicale périnatale, a été portée. Elle présente une dysmorphie faciale; la calcémie est normale.

Au niveau familial, le caryotype et la FISH 7q11.23 n'ont pas montré d'anomalies. L'analyse de la région 7q11.23 en MLPA a mis en évidence une délétion atypique, confirmée par CGH-array (Agilent 244K), du gène ELN en entier et d'une partie du gène LIMK1, cosegregant avec le phénotype familial.

Concernant le phénotype associé au syndrome de Williams-Beuren, hormis l'association du phénotype cardiovasculairede à la perte d'un allèle du gène de l'elastine (ELN), les conséquences phénotypiques associées à la perte d'autres allèles de la région restent peu connues. En se basant sur l'étude de délétion atypique (Frangiskakis et al) et de modèles murins, la perte d'un allèle du gène LIMK1 posséderait un rôle putatif sur les difficultés dans les performances visuospatiales associées au WBS.

Le phénotype familial sera détaillé et comparé aux données de la littérature actuelle.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P218 - STRATEGIE D'EXPLORATION D'UNE DEFICIENCE INTELLECTUELLE INEXPLIQUEE

D HERON (1), V DES PORTES (2), T BILLETTE DE VILLEMEUR (3), M RIO (4), ML MOUTARD (5), A JACQUETTE (6), A AFENJAR (7), N BAHI BUISSON (8), D VILLE (9), C ROUGEOT (10), L ROBEL (11), S PASSEMARD (12), P CHARLES (13), C BAUMANN (14), C MIGNOT (15), L BURGLEN (16), A VERLOES (17), x Réseau DéfiScience (18)

1. Département de Génétique et de Cytogénétique; centre de référence "déficiences intellectuelles de causes rares";5. Centre de Référence Maladies Rares « Maladies et Malformations congénitales du cervelet »;INSERM CRicm, UMR-S975, GH Pitié Salpétrière, Paris, France

2. 15. Service de Neuropédiatrie; Centre de référence « Déficiences intellectuelles de causes rares », hospices civils de lyon, Lyon, France

3. Service de neuropédiatrie,Centre de Référence Maladies Rares « Déficiences intellectuelles de causes rares », pole polyhandicap pédiatrique, hopital Trousseau, paris, France

4. service de génétique; Centre de Référence Maladies Rares « Déficiences intellectuelles de causes rares », hopital Necker enfants malades, paris, France

5. Service de neuropédiatrie, 3. Centre de Référence Maladies Rares « Déficiences intellectuelles de causes rares », hopital trousseau, paris, France

6. Département de Génétique et de Cytogénétique; centre de référéence "déficience intellectuelles de causes rares", GH Pitié Salpétrière, Paris, France

7. Département de Génétique et de Cytogénétique; centre de référence "Déficience intellectuelles de causes rares";Centre de Référence Maladies Rares « Anomalies du développement et syndromes malformatifs – Ile de France »; Centre de Référence Maladies Rares, GH Pitié Salpétrière, paris, France

8. service génétique;Centre de Référence Maladies Rares « Déficiences intellectuelles de causes rares », hopital Necker enfants malades, paris, France

9. Service de neuropédiatrie, Centre de Référence Maladies Rares « Déficiences intellectuelles de causes rares », hospices civils de lyon, Lyon, France

10. Service de neuropédiatrie, 3. Centre de Référence Maladies Rares « Déficiences intellectuelles de causes rares », hospices civils de lyon, Lyon, France

11. service de psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent; Centre de Référence Maladies Rares « Déficiences intellectuelles de causes rares », hopital Necker enfants malades, paris, France

12. service de génétique; Centre de Référence Maladies Rares « Déficiences intellectuelles de causes rares »; Centre de Référence Maladies Rares « Anomalies du développement et syndromes malformatifs – Ile de France »; 2. INSERM U676, hopital robert debré, paris, France

13. Département de Génétique et de Cytogénétique; Centre de référence"déficiences intellectuelles de causes rares", GH Pitié Salpétrière, paris, France

14. Département de Génétique; Centre de Référence Maladies Rares « Déficiences intellectuelles de causes rares »; Centre de Référence Maladies Rares « Anomalies du développement et syndromes malformatifs – Ile de France », hopital robert debré, PARIS, France

15. Centre de Référence Maladies Rares « Déficiences intellectuelles de causes rares »;Centre de Référence Maladies Rares « Anomalies du développement et syndromes malformatifs – Ile de France » ; Département de Génétique; Service de Neuropédiatrie, GH Pitié Salpétrière, paris, France

16. Service de neuropédiatrie et pathologie du développement; centre de référence "déficeiences intellectuelles de causes rares"; Centre de Référence Maladies Rares « Anomalies du développement et syndromes malformatifs – Ile de France »; Centre de Référence, Hopital Trousseau, Paris, France

17. Département de Génétique, INSERM U676, Centre de Référence Maladies Rares « Déficiences intellectuelles de causes rares »;Centre de Référence Maladies Rares « Anomalies du développement et syndromes malformatifs – Ile de France », hopital robert debré, paris, France

18. Dr D. Amsallem, Pr P. Berquin, Pr O. Boespflug-Tanguy, Dr O. Bonnot, Pr P. Castelnau, Dr N. Chabanne, Pr B. Chabrol, Pr Y. Chaix, Pr D. Cohen, Pr I. Desguerre, Dr M. Doco-Fenzy, Dr C. Goizet, Pr D. Lacombe, Pr S. Lyonnet, Dr M. Mathieu, Pr A. Munnich, Pr, Réseau des centres de compétence associés aux Centres de Référence Maladies Rares « déficiences intellectuelles de causes rares » (Paris et Lyon) et au Centre de Référence Maladies Rares « maladies et malformations congénitales du cervelet » (Paris, Lyon, Paris, Lille, Lyon, France

La déficience intellectuelle (DI) est une affection extrêmement hétérogène au plan étiologique. Les stratégies d'investigation ont fait l'objet d'un petit nombre de publications de consensus, essentiellement nord-américaines, mais elles ont été bouleversées ces dernières années par l'explosion de la cytogénétique moléculaire et l'émergence de pathologies métaboliques nouvelles. Partant des acquis antérieurs, le réseau des Centres de Référence Maladies Rares « Déficiences intellectuelles de Causes Rares » a élaboré un protocole d'investigation de la DI non

syndromique qui tient compte des acquis très récents en matière de génétique et de génomique. Ainsi, nous recommandons, pour un patient présentant une DI isolée, ou associée à des éléments dysmorphiques mineurs, et/ou des signes neurologiques non spécifiques, une approche diagnostique en 2 ou 3 étapes.

Première étape

1. Recherche d'un remaniement chromosomique par CGH array lorsque cette analyse est accessible ou à défaut, par un caryotype standard + screening des subtélomères et des délétions/duplications interstitielles communes par MLPA (ou équivalent)
2. X fragile (dans les 2 sexes)
3. NFS, ionogramme, calcium, urée, créatinine, acide urique (chez le garçon)
4. ALAT, ASAT, CK
5. Tests thyroïdiens : T3, T4 et TSH
6. Créatine et guanidinoacétate urinaire (sauf si IRM avec spectroscopie programmée)
7. Bilan sensoriel : auditif et ophtalmologique
8. Dans certaines conditions :

a. IRM cérébrale: si retard moteur marqué, anomalie de l'examen neurologique, épilepsie, macrocéphalie ou microcéphalie

b. Echographies cardiaque et rénale, et radiographie du squelette : en cas de signes morphologiques mineurs

c. EEG : si épilepsie ou manifestations paroxystiques, régression du langage ou discordances cognitives (dans ce cas EEG de 24 heures)

d. Bilan métabolique : uniquement si signes d'appels francs, ou consanguinité

Deuxième étape

Lorsque l'examen combiné (caryotype + MLPA) est normal), devant un patient pour lequel une CGH array n'est pas possible localement, l'avis d'un généticien ayant accès à cette technique peut être demandé

Troisième étape

1. Si DI modérée à sévère sans signe d'appel franc : bilan métabolique comportant CAAs, CAOu, amoniémie post-prandiale, AICAR + SAICAR, N et O glycosylation. Ponction lombaire si suspicion de Glut1, et congélation du LCR à -80°
2. A discuter : imagerie cérébrale sans signe d'appel (selon la nécessité ou non d'une AG) et EEG sans signe d'appel, autres examens électro-physiologiques (PEV, PEA, ERG…)

En fonction des signes associés et de l'examen clinique, la première étape diagnostique sera complétée par certaines investigations supplémentaires.

Les bilans proposés doivent être considérés comme des démarches de première intention, pouvant être réalisée en ambulatoire. En fonction de la clinique, elles pourront être complétées d'explorations plus contraignantes, qui sortent du cadre traité.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P219 - SPECTRE PHENOTYPIQUE LIE AUX MUTATIONS DU GENE PLA2G6 : DE LA DYSTROPHIE NEUROAXONALE INFANTILE DNAI AUX FORMES TARDIVES. PHENOTYPIC SPECTRUM ASSOCIATED WITH MUTATIONS IN THE PLA2G6 GENE: FROM INFANTILE NEUROAXONAL DYSTROPHY TO LATE ONSET TYPE.

A Afenjar (1), MA Barthez (2), T Billette de Villemeur (3), O Boespflug-Tanguy (4), L Burglen (5), M Carneiro (6), B Chabrol (7), JM Cuisset (8), I Desguerre (9), P Garcia (10), A Gelot (11), F Giuliano (12), S Hayflick (13), B Heron (14), E Lagrue (2), C Laroche (15), V Laugel (16), S Maia (17), C Mignot (14), S Napuri (18), L Pasquier (19), F Ramos (17), D Rodriguez (20), A Roubertie (21), A Toutain (22), M Ulla (23), D Ville (24)

1. Service de Neuropédiatrie, Centre de référence pour les malformations et maladies congénitales du cervelet,Service de Génétique, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
2. Unité de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Gatien de Clocheville, Tours, France
3. Service de Neuropédiatrie,Centre de référence pour les malformations et maladies congénitales du cervelet, Université Paris VI, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
4. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
5. Centre de référence pour les malformations et maladies congénitales du cervelet, Service de génétique, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
6. Service de Neuropédiatrie, CHU Gui de Chauliac, Montpellier, France
7. Centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme, Hôpital de la Timone, Marseille, France
8. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Roger Salengro, Lille, France
9. Service de Neuropédiatrie, AP-HP, Hôpital Necker, Paris, France
10. Unidade de Doenças metabolicas, Hospital Pediatrico Carmona da Mota, Coimbra, Portugal
11. Neuropathologie laboratoire d'anatomopathologie, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
12. Service de Génétique, Hôpital de l'Archet, Nice, France
13. Department of molecular and medical genetics, Portland Hospital, Portland Oregon, USA
14. Service de Neuropédiatrie, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
15. Service de Pédiatrie, Hôpital mère-enfant, Limoges, France
16. Service de Pédiatrie, CHU Strasbourg-Hautepierre, Strasbourg, France
17. Serviço de Genética Médica, Hospital Pediatrico Carmona da mota, Coimbra, Portugal
18. Service de Pédiatrie, Hôpital Sud, Rennes, France
19. Service de Génétique, Hôpital Sud, Rennes, France
20. Service de Neuropédiatrie,Centre de référence pour les malformations et maladies congénitales du cervelet,Université Paris VI, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
21. Service de Neuropédiatrie, Institut des Neurosciences de Montpellier, Inserm U1051, CHU Gui de Chauliac, Montpellier, France
22. Service de Génétique, Hôpital Bretonneau, Tours, France
23. Service de Neurologie, Hôpital Gabriel Montpied, Clermont-Ferrand, France
24. Service de Neuropédiatrie, CHU Lyon GH Est, Bron, France

La dystrophie neuroaxonale infantile (DNAI) est une maladie neurodégénerative autosomique récessive caractérisée par une dégradation motrice et cognitive débutant avant 2 ans et aboutissant rapidement à un état grabataire avec atrophie optique et atteinte de la corne antérieure. L'IRM cérébrale retrouve une atrophie cérébelleuse et parfois un hyposignal des globes pâles suggérant une accumulation de fer. En 2006, des mutations du gène PLA2G6 ont été identifiées chez les patients DNAI. Depuis les phénotypes liés à ce gène se sont enrichis et sont regroupés sous le terme de PLAN (PLA2G6 associated neurodegeneration). Une classification a été proposée distinguant les «infantile onset PLAN» (DNAI classique), des «childhood onset PLAN» (début après 2 ans et évolution plus lente) et des «adulthood onset PLAN» (dystonie-parkinsonisme).

Dans le but de préciser les phénotypes liés à PLA2G6, nous avons testés 91 patients avec des tableaux plus ou moins typiques de PLAN, dont 52 «infantile onset PLAN».

L'étude du gène PLA2G6 a été réalisée par séquençage de la région codante, associée à une recherche de délétion/duplication exonique par MLPA. Nous avons identifié des mutations bialléliques chez 42 patients (32 mutations dont 22 nouvelles, 20 faux-sens ou délétion in-frame, 4 non-sens, 2 délétions frame-shift, 2 mutations d'épissage et 4 délétions exoniques).

75% (39/52) des patients ayant une régression débutant avant 2 ans étaient mutés. Tous sauf un présentaient un phénotype homogène et typique de DNAI. La dernière patiente se distinguait par une évolution lente, conservant une marche cérébellospastique à 4 ans. Le diagnostic a été évoqué devant une atrophie cérébelleuse et un hyposignal des globes pâles à l'IRM.
Parmi les 39 patients ayant débuté leur maladie plus tardivement, seul 3 étaient mutés.
Une fratrie présentait une dégradation cognitive et comportementale à partir de l'adolescence (mais précédée de difficultés d'apprentissage pour l'un des 2) avant l'apparition des troubles moteurs, dystonie-parkinsonisme. L'IRM montrait à 17 et 19 ans un hyposignal des globes pâles.
Une patiente de 14 ans avait une déficience intellectuelle fixée avec troubles du comportement et une ataxie statique. L'implication de PLA2G6 a été suspectée devant une atrophie cérébelleuse isolée à 6 ans puis associée à un hyposignal des globes pâles à 10 ans.
Aucune mutation n'a été identifiée chez les 15 patients présentant un tableau de dystonie-parkisonisme débutant à l'age adulte avec ou sans hyposignal des globes pâles.
L'analyse des données cliniques et moléculaires n'a permis d'identifier aucune corrélation génotype-phénotype. Ce travail confirme que le gène PLA2G6 est un gène majeur de dystrophie neuroaxonale infantile dont le phénotype clinique est très homogène. Les autres phénotypes associés à PLA2G6 semblent très rares et hétérogènes. Les anomalies IRM évoquant des dépôts de fer semblent un bon critère de sélection pour ces formes tardives.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P220 - ATTENUATION DU PHENOTYPE DE LA DYSPLASIE ECTODERMIQUE ANHIDROTIQUE LIEE A L'X

C Cluzeau (1), S Hadj-Rabia (2), E Bal (3), F Clauss (4), A Munnich (5), C Bodemer (6), D Headon (7), A Smahi (8)
1. Unité INSERM781, Université Descartes Paris V, Paris, France
2. Service de Dermatologie, Centre de référence MAGEC, unité INSERM781, Hôpital Necker-Enfants Malades, université Descartes Paris V, Paris, France
3. Unité INSERM U781, Université Paris Descartes Paris V, Paris, France
4. Centre de référence des maladies odontologiques, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
5. Departement de génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Descartes Paris V, Paris, France
6. Service de Dermatologie, Centre de référence MAGEC, unité INSERM 781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Descartes Paris V, Paris, France
7. Roslin institute, Université d'Edingurgh, Edinburgh, Royaume-Uni
8. Unité Inserm781, Université Paris V, Paris, France

La dysplasie ectodermique hypo/anhidrotique (DEA) est une génodermatose rare associant une diminution de la sudation (hypo ou anhidrose) des anomalies dentaires (hypo ou oligodontie) et de la pilosité. Parmi les quatre protéines rendant compte de la plupart des cas, trois appartiennent à la même voie NF-KappaB : l'ectodysplasine (ligand), EDAR (son récepteur) et EDARADD (une protéine adaptatrice). Ici, nous montrons pour la première fois qu'un polymorphisme de la protéine EDAR peut atténuer le phénotype lié à des mutations du gène EDA1 condant l'ectodysplasine.

Patients

Le propositus, un garçon de 6 ans, présente une forme caractéristique de DEA. L'examen de son frère,12 ans, montre une diminution de la sudation, l'absence de deux dents. Celui de sa sœur est normal. En dehors de la raréfaction des sourcils l'examen de leur mère est normal. L'examen de quatre autres membres de la famille (le grand-père maternel, son frère et les deux filles de ce dernier) retrouve un phénotype très modéré de DEA sauf chez l'une des filles.

Résultats et Discussion

L'étude moléculaire, étude de liaison aux différents locus et séquençage, retrouve une délétion de 18 paires de bases dans le gène EDA1 chez les 8 patients. La présence d'un polymorphisme EDAR370A dans le gène EDAR est retrouvée chez les six patients présentant un phénotype modéré. Ce polymorphisme semble activer la voie NF-KappaB même lorsqu'il est peu stimulé par une mutation hypomorphe par exemple. Il vient probablement compenser la délétion rapportée dans cette famille.
Ainsi, chez le garçon même atteint de forme modérée de DEA, le gène EDA1 peut être impliqué.

Conclusion

Ce résultat ouvre des perspectives dans la compréhension de la variabilité phénotypique intra et interfamiliale de la DEA. D'autres polymorphismes dans les gènes de la voie NF-Kappa B pourraient être recherchés. Il ouvre en outre des perspectives en termes de possibilités thérapeutiques.

Mots Clefs : EDAR370A, corrélation génotype-phénotype, dysplasie ectodermique anhidrotique

POSTER
1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P221 - VARIANTS NON CLASSES DU GENE CFTR : COMBINAISON DE 3 APPROCHES POUR L'EVALUATION DE LEUR IMPACT SUR L'EPISSAGE.

MP Audrezet (1), C Férec (1), C Ka (1), G Le Gac (1)
1. Génétique, Hôpital Morvan, Brest, France

Introduction : La mucoviscidose est la maladie génétique grave de l'enfant la plus fréquente dans les populations d'origine caucasienne. Le gène responsable, appelé CFTR a été cloné en 1989. A coté de la mutation majoritaire, F508del, plus de 1600 variations ont été décrites.
Si la causalité de la majorité des mutations faux sens est de mieux en mieux documentée, il existe encore aujourd'hui, un grand nombre de variations pour lesquelles la démonstration de l'impact délétère reste difficile, particulièrement pour les variations introniques.

Objectif : Dans le cadre du diagnostic moléculaire de la mucoviscidose, nous sommes régulièrement confrontés à l'identification de nouveaux variants difficiles à interpréter dans un contexte de conseil génétique. Nous souhaiterions donc disposer d'un outil compatible avec une utilisation en diagnostic afin de documenter l'effet possiblement délétère de nouvelles variations du CFTR sur l'épissage.

Matériels et méthode : Notre stratégie comporte 3 approches complémentaires. I) Evaluation in silico de l'impact des variations sur l'épissage (Alamut, HSF) et classification en fonction de l'effet attendu : exclusion d'exon, création d'un site d'épissage alternatif, effet modéré ou absence d'effet. II) Test d'épissage ex vivo utilisant un minigène composé des exons 1 à 3 du gène polR2G inséré dans un vecteur d'expression. Les fragments d'ADN génomique (150 pb de part et d'autres de l'exon d'intérêt) sont amplifiés par PCR puis le clonage est réalisé par recombinaison homologue, au niveau d'un site unique ce qui apporte un gain de temps et d'efficacité. Après transfection dans 3 lignées cellulaires (HEK293T, HeLa et T84), les transcrits sont analysés par RT-PCR puis séquençage. III) Analyse des ARNs issus de patients porteurs des variations étudiées, à partir de cellules épithéliales nasales.
Afin de valider notre démarche, nous avons choisi d'appliquer cette stratégie sur près de 80 variants du gène CFTR identifiés chez des patients ou des conjoints d'hétérozygotes.

Résultats : Ces 80 variations ont été analysées in silico et classées, puis dans un premier temps, afin d'évaluer notre approche ex vivo nous avons testé quelques variants de chaque catégorie et majoritairement obtenu des résultats concordants. Une mutation « exclusion d'exon » touchant un site canonique d'épissage présente un résultat non prédit par l'informatique. Enfin, une variation « effet modéré » semble avoir un impact plus important que celui obtenu lors des prédictions.

Conclusion : La stratégie minigène par recombinaison homologue se révèle être un outil rapide, robuste et efficace pour l'analyse de l'effet de variations inclassées du gène CFTR. Les données obtenues in silico et ex vivo devront maintenant être confrontées à l'analyse des ARNs de patients. L'augmentation du nombre de variants testés devrait nous permettre d'évaluer plus précisément la sensibilité et la spécifité de cette stratégie.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P222 - EVOLUTION SATISFAISANTE ET REPONSE IMMUNOLOGIQUE ATYPIQUE D'UN ENFANT DE 3 ANS ATTEINT D'UNE MALADIE DE POMPE AYANT UN STATUT CRIM NEGATIF.

A Masurel-Paulet (1), M Avila (1), C Bonnemains (2), S Perez-Martin (3), C Fischer (3), R Maudinas (3), C Thauvin-Robinet (1), F Huet (3), L Faivre (1), F Feillet (2)

1. Centre de génétique et Centre de Référence "Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs", CHU, Dijon, France
2. Centre de référence " Maladies Héréditaires du Métabolisme", Hôpital d' Enfants Brabois, Vandoeuvre Les Nancy, France
3. Service de Pédiatrie, CHU, Dijon, France

La maladie de Pompe infantile ou déficit en maltase acide se traduit par une cardiomyopathie, une hypotonie secondaire à une myopathie, et en l'absence de traitement un décès précoce. L'enzymothérapie substitutive a permis d'améliorer considérablement le pronostic vital de ces enfants. Cependant, cette enzymothérapie reste inefficace chez les patients ayant un statut CRIM négatif (cross reactive immunological material), c'est-à-dire produisant précocement un haut taux des anticorps contre l'enzyme. .Nous décrivons ici le cas d'un enfant âgé de 36 mois, présentant une forme sévère (statut CRIM négatif, p.R870X/p.R870X) et ayant pour l'instant une évolution satisfaisante et une réponse immunologique atypique. Suite à la mise en route de l'enzymothérapie à l'âge de 2 mois et demi, sa cardiomyopathie a rapidement régressé. La première année de vie a été marquée par des encombrements pulmonaires récidivants, des infections pulmonaires, un asthme et des troubles de la déglutition, ayant conduit à la mise en place d'une gastrostomie. La deuxième année, son état clinique s'est véritablement amélioré avec une nette diminution des épisodes de décompensation respiratoire ou infectieux, et un début d'alimentation par voie orale. A l'âge de 2 ans, il a présenté une réaction anaphylactique, contemporaine d'une séroconversion des anticorps contre l'enzyme (IgG=1/100), ce qui a conduit à étudier son statut CRIM. Actuellement, il supporte bien ses perfusions sous prémédication. Il continue à progresser aussi bien sur le plan moteur que pulmonaire. Il garde une hypotonie des membres inférieurs mais est capable de se déplacer sur les fesses, de passer seul de la position allongée à la position assise et de se mettre seul en position genou dressée. Enfin, il débute la communication par signes étant donné une surdité et une hypotonie buccale associées. Parallèlement, les taux d'anticorps poursuivent leur lente augmentation (IgG=1/3200) sans activité neutralisante contre l'enzyme. Cet enfant présente donc une évolution relativement satisfaisante aussi bien sur le plan de la survie, que sur le plan du développement moteur et du pronostic pulmonaire, par rapport aux autres enfants décrit avec un statut CRIM négatif. Ceci pourrait être expliqué par la réponse immunologique atypique, mais son évolution clinique reste à surveiller.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P223 - JOUBERT SYNDROME WITH OCULAR DEFECT IN A TUNISIAN BABY

N Abdelmoula Bouayed (1), H Aloulou (2)
1. Laboratoire d'histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Pédiatrie, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

A Tunisian female baby, born from consanguineous parents, manifests a sever growth and development delay, hypotonia, abnormal respiratory pattern and delay in achieving motor milestones. She has dysmorphic features with prominent forehead, high rounded eyebrows, epicanthal folds, ptosis, strabismus an upturned nose, an open mouth which appear triangular with downturned angles, tongue protrusion and rhythmic tongue motions, and abnormal shaped low-set ears. Ophthalmologic examination shows bilateral retinal dystrophy and transfontanellar ultrasonography, a cortico-subcortical atrophy. On magnetic resonance imaging, there is the neuroradiological hallmark of Joubert syndrome (JS): the molar tooth sign. Linkage analysis with microsatellite markers for MKS3/TMEM67 on chromosome 8 (8q22) and AHI1 on chromosome 6 (6q23.3) shows that haplotypes in the affected child are heterozygous for MKS3/TMEM67 and homozygous for AHI1 gene. Since mutational analysis of causative genes is available in few laboratories worldwide on a diagnostic or research basis, direct sequencing of the AHI1 gene in our family cannot be carried out and the identification of the AHI1 mutation which allows early prenatal genetic testing is not done. The parents are informed about the risk of recurrence estimated of 25% and prenatal imaging diagnosis of JSRD using both ultrasound and fetal MRI is recommended although fetal brain neuroimaging may remain uninformative until the end of the second trimester of pregnancy.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P224 - LA DYSPLASIE SPONDYLOEPIMETAPHYSAIRE DE TYPE STRUDWICK A PROPOS D'UN CAS

SPONDYLOMETEPIPHYSEAL DYSPLASIA, STRUDWICK TYPE: A CASE REPORT

I Chelly (1), K Ben Salem (2), M Ben Smida (3), M Chaabouni (4), H Chaabouni (4), N Gandoura (2)

1. Sevice des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
2. Service de pédiatrie, Hôpital régional de Bizerte, Bizerte, Tunisie
3. Service d'orthopédie pédiatrique, Hôpital d'enfant, Tunis, Tunisie
4. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

Mots clefs : dysplasie spondyloépimétaphysaire (SEMD), type Strudwick, collagénopathie type II

La dysplasie spondyloépimétaphysaire (SEMD) présente un groupe hétérogène de maladies rare à phénotype et à modes de transmission différents avec des anomalies radiologiques précises de la colonne vertébrale, des épiphyses, et des métaphyses. Plusieurs types bien définis ont été identifiés telque SEMD de type Strudwick (OMIM 184250). Ce syndrome a été décrit pour la première fois par Murdoch and walker en 1969, puis par Anderson et al en 1982. Il est caractérisé essentiellement par un nanisme à début anténatal, un raccourcissement rhizomélique des membres, un pectus carinatum et des anomalies vertébrales. C'est une collagénopathie type II, à transmission autosomique dominante.

Dans notre travail, nous présentons le cas d'une fillette âgée de 7 ans, chez qui le diagnostic de SEMD type Strudwick est posé devant la présence d'un retard de croissance intra-utérin dysharmonieux avec des extrémités courtes, un nanisme à -5DS, un thorax court, un pectus carinatum décrits à la naissance, un abdomen proéminent, une hyperlordose lombaire, un genu valgum bilatéral, des pieds en rotation externe et un metatarsus valgus bilatéral. Elle présente par ailleurs, une dysmorphie faciale avec un visage triangulaire et une luette bifide, un poids à -2.5DS et un périmètre crânien à la moyenne.

Notion de retard de marche, avec des hanches luxables. L'intellect est parfaitement normal.

Le bilan radiologique a montré un aspect irrégulier des épiphyses avec début d'ossification de la tête fémorale, une coxa vara des hanches, un pubis dyplasique, une platyspondylie e lombaire. Les métacarpes et les phalanges sont normaux. L'examen ophtalmologique est normal, ainsi que l'échographie abdominale, rénale et le scanner cérébral. Ce syndrome est caractérisé par une atteinte métaphysaire caractéristique à type de « dappled » métaphyses qui apparait au début de l'adolescence. Une myopie peut se voir avec risque de décollement rétinien. L'atteinte vertébrale peut mettre en jeu le pronostic vital vu le risque de compression médullaire surtout au début d'âge adulte ; d'où la nécessité d'une surveillance stricte ophtalmologique et médullaire. Notre patiente présente une atteinte importantes des hanches d'où la nécessité d'une ostéotomie de Chiari. Ce syndrome est du à une mutation du gène COL1A2 (12q13.11q13.2). La majorité des cas sont sporadiques et la récurrence de ce syndrome dans une famille est de moins de 5% en rapport avec une mosaïque germinale chez l'un des parents.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P225 - SYNDROME DE FRASER : MISE EN PLACE ET PREMIERS RESULTATS DU DIAGNOSTIC MOLECULAIRE AU CHU DE CLERMONT-FERRAND

C Janel (1), D Bozon (2), C Francannet (3), P Dechelotte (4), I Creveaux (1), I Creveaux (5)

1. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Faculté de Médecine, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
2. Laboratoire de Cardiogénétique, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
3. Service de Génétique Médicale, Hôpital Estaing, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
4. Service d'Anatomie-Pathologique, Hôpital Estaing, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
5. CNRS, UMR 6247 ; INSERM U931, Faculté de Médecine, GReD, Clermont-Ferrand, France

Le syndrome de Fraser est une maladie rare (0,43 cas pour 100 000 naissances), à transmission récessive autosomique. C'est un syndrome polymalformatif dont les signes cardinaux sont la cryptophtalmie et la syndactylie. Ils sont associés à d'autres anomalies crânio-faciales ainsi qu'à des malformations génitales, urinaires et/ou pulmonaires. L'expression est variable en fonction des familles. Des critères cliniques de diagnostic ont été définis par Van Haelst et al. en 2007. Actuellement, le diagnostic anténatal est échographique au cours du 2ème trimestre et reste difficile à affirmer en l'absence d'antécédents familiaux. Seuls 2 gènes, FRAS1 et FREM2, ont été identifiés comme responsables du syndrome de Fraser chez l'homme. Ces gènes appartiennent à la même famille et codent des protéines de la matrice extracellulaire exprimées à des stades précoces du développement. A ce jour, 19 mutations différentes ont été décrites dans FRAS1 et seulement 2 dans FREM2.

Dans le cadre de ce travail, notre objectif initial a été d'identifier, par des techniques de PCR-séquençage, des mutations pouvant être à l'origine du syndrome de Fraser chez des patients issus de 8 familles diagnostiqués sur des critères cliniques. Nous avons choisi d'analyser en priorité le gène FRAS1 (impliqué dans la majorité des cas). La valeur des variations de séquences non décrites comme polymorphismes a été précisée à l'aide d'algorithmes bioinformatiques (Polyphen.v2, SIFT, Alamut - Interactive Biosoftware ; Human Splicing Finder - Desmet et al., 2009 ; HBond - Freund et al., 2003) et de tests fonctionnels basés sur la transfection de constructions minigène dans des cellules HeLa (Baralle D et Baralle M, 2005).

Nous avons mis en évidence au terme de ce travail plus de 80 variations de séquences dans FRAS1 dont 12 non référencées dans les bases de données ou retrouvées dans une seule famille. Parmi celles-ci, 10 se sont avérées potentiellement délétères : 4 mutations non sens, 2 mutations introniques affectant l'épissage, une duplication, 2 variations faux sens et enfin 2 variations de séquence pouvant affecter l'épissage. L'impact de ces dernières sur l'épissage a été confirmé par étude minigène. Au total, les mutations causales ont été identifiées chez 7 des 8 familles étudiées.

Dans notre série, l'analyse du gène FRAS1 a permis d'apporter au clinicien une confirmation moléculaire du diagnostic de syndrome de Fraser dans 88% des cas (42,5% dans la littérature pour une série de 40 familles ; van Haelst et al., 2008) et offre la possibilité de proposer un diagnostic moléculaire anténatal précoce lors d'une future grossesse.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P226 - ADAPTOR–RELATED PROTEIN COMPLEX 4, BETA 1 SUBUNIT: A NEW PLAYER IN AUTOSOMAL RECESSIVE MENTAL RETARDATION SYNDROME

J Andrawes (1), R Bargal (2), O Philippe (3), L Colleaux (3), C Jalas (4), A Raas-Rothschild (2)

1. Erwin-Green child development center; Pediatric department, Saint-Vincent Hospital, Nazareth;, Israel
2. Monique and Jacques Roboh Department of Genetic Research and The Department of Human Genetics and Metabolic diseases, Hadassah Hebrew University Medical Center., Jerusalem, Israel
3. INSERM U781, Département de Génétique Fondation IMAGINE, Université Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. Center for Rare Jewish Genetic Disorders, Bonei Olam, Brooklyn, NY, USA

The etiologies of mental retardation include chromosomal abnormalities, recognizable malformation syndromes, environmental factors and monogenic diseases. Until now, up to 13 genes have been identified in patients with nonspecific autosomal recessive intellectual disability (ID). From a clinician point of view, the search for the ID etiology is difficult and often frustrating. The use of SNP analysis for autozygosity mapping has been effective for the search of disease causing genes especially in consanguineous families. Mutation in the Adaptor–related protein complex 4, beta 1 subunit (AP4B1) gene has been recently reported in a family with autosomal recessive severe intellectual disability, microcephaly, absent speech, shy character, stereotypic laughter, muscular hypotonia that progressed to spastic paraplegia, and inability to walk. Here we report on four patients belonging to a consanguineous Arab-Muslim family with a deletion in the AP4B1 gene (c.1159_1160 delAC; p.T387 fsX29). Using autozygosity mapping, we identified a 1.9 Mb homozygous region on chromosome 1p13.2 [rs12404563 (113491358) and rs2798469 (115438138)] which included this gene . The four patients, reported here, presented with tracheomalacia, hypertrichosis, hypersalivation , and bouts of laugh especially during night. Prenatal ventriculomegaly was detected at week 25th in one patient ; Postnatal brain imaging permitted to detect a thin corpus callosum and white matter changes in 2 patients. One affected first cousin had arrested ventriculomegaly. The results of this study shows how the use of snp analysis for autozygosity mapping in consanguineous families can lead to the gene identification, and accurate genetic counseling.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P227 - DEUX REMANIEMENTS DESEQUILIBRES DIFFERENTS DU CHROMOSOME X: DER(X) OU DEL(X) D'UNE MEME T(X;Y)(P22;Q11) FAMILIALE.

E Blondeel (1), S Kanafani (2), J Andrieux (3), S Chantot (4), B Keren (5), C Kannengiesser (6), A Receveur (7), H Copin (8)
1. Laboratoire de Cytogenetique et procréation médicalement assistée, CHI Poissy Saint Germain en Laye, Poissy, France
2. service de cytogénétique et de biologie de la reproduction, CGO, CHU Amiens, Amiens, France
3. Laboratoire de Génétique Médicale, Hopital Jeanne, Lille, France
4. Laboratoire de Cytogénétique, Hopital Armand Trousseau, Paris, Gabon
5. Laboratoire de cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
6. Laboratoire de Biochimie B et hormonale, Hopital Bichat, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
7. laboratoire de cytogénétique et de biologie de la reproduction, CGO, CHU Amiens, Amiens, France
8. Laboratoire de cytogénétique et de biologie de la reproduction, CGO CHU Amiens, Amiens, France

Clinique:
Nous rapportons le cas d'une famille dans laquelle ségrègent deux déséquilibres différents d'un chromosome X. Le cas index à l'origine de cette observation est un nouveau-né de sexe masculin, premier enfant de parents non consanguins,sans antécédent familial,présentant une dysmorphie faciale à type d'hypoplasie nasale, visage plat et macroglossie,ainsi qu'un pli palmaire transverse unique bilatéral; une hypotonie axiale et périphérique et une brachytéléphalangie confirmée par les radiographies, qui décèlent également des calcifications punctiformes des cartilages épiphysaires et du cartilage thyroïdien. A deux ans, la dysmorphie faciale persiste, la brachytéléphalangie est accentuée et la taille est -1DS; les calcifications ponctuées ont régressé;les acquisitions psychomotrices sont normales.
Cytogénétique:
Le caryotype du cas index montre un remaniement du chromosome X.
Le caryotype maternel est: 46,X,der(X)t(X;Y)(p22;q11). Le remaniement est confirmé par FISH; une puce CGH montre que le Y maternel est uniquement constitué d'hétérochromatine. Le phénotype de la mère est sans particularité, hormis une petite taille à 1,50m par délétion du gène SHOX en Xp22.33.
Pour le cas index, la mère lui a transmis son der(X) et le caryotype est: 46,der(X)t(X;Y)(p22;q11),Y mat, avec une duplication partielle Yq et une nullosomie partielle X terminale emportant le gène aryl sulfatase E (ARSE) en Xp22.33, dont la délétion est responsable de la chondrodysplasie récessive liée à l'X compatible avec la clinique.
L'enquête familiale met en évidence un remaniement différent à type de del(X)(p22) chez un membre de la famille de sexe féminin, dont la mère a le même der(X) que celui du cas index.
Méthodes, résultats: les deux femmes ont hérité, à partir de la même translocation maternelle, de remaniements différents d'un chromosome X ; elles ne présentent pas de particularité phénotypique en dehors de la petite taille.
Des puces CGH (Agilent 44K) et SNP (Illumina 244K) précisent les points de cassure : en Xp22.33 pour le der(X) et en Xp22.11 pour le del(X),où le chromosome X n'a pas que «perdu» l'hétérochromatine transloquée de l'Y.
Une étude de l'inactivation de l'X par analyse du profil de méthylation du locus du gène du récepteur aux androgènes montre d'une part la présence d'un biais d'inactivation du chromosome X remanié, et que pour les 2 remaniements de l'X, il s'agit du même chromosome X (les allèles du gène du récepteur aux androgènes sont identiques sur le X remanié des deux patientes).
Discussion:
- La symptomatologie à minima chez les femmes porteuses du der(X)t(X;Y) est liée au biais d'inactivation de l'X remanié.

- L'arbre généalogique de cette famille remonte à 4 générations où seules les femmes sont transmettrices donc fécondes. Les garçons atteints ne sont pas encore en âge de procréer.
- Une région minimale critique serait impliquée pour ces remaniements; une réflexion de mécanisme(s) à l'origine de la del(X) est proposée.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P228 - MALADIE D'ALEXANDER: DONNEES CLINIQUES ET HISTOIRE DE LA MALADIE A PARTIR D'UNE SERIE DE 42 MALADES PORTEURS D'UNE MUTATION DANS LE GENE GFAP

MA Barthez (1), H Bataille (2), E Bertini (3), O Boespflug-Tanguy (4), A Brice (5), G Bruneteau (6), L Burglen (7), P Castelnau (8), Y Chaix (9), P Charles (10), P Comet Didierjean (11), I Desguerre (12), A Durr (5), F Feillet (13), C Goizet (14), A Guët (15), X Hernandorena (16), N Le Forestier (17), T Linnankivi (18), C Mignot (19), MC Nassognoe (20), JM Pédespan (21), D Pham-Dinh (22), D Rodriguez (23), A toutain (24), M Troncoso (25), G Uziel (26), V Valayannopoulos (27), L Vallée (28)

1. Unité de Neuropédiatrie, Hôpital Clocheville, Tours, France
2. Service de Pédiatrie, CHG Saint-Pierre, Le Tampon, France
3. Department of Laboratory Medicine, Bambino Gesu' Children's Research Hospital, Rome, Italie
4. Neurologie Pédiatrique, Hôpital Robert Devré, Paris, France
5. Département de génétique et cytogénétique, GH Pitié Salpêtrière, Paris, France
6. Fédération de Neurologie, GH Pitié Salpêtrière, Paris, France
7. Service de Génétique Médicale, Hôpital Trousseau, Paris, France
8. Unité de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Clocheville, Tours, France
9. Unité de Neurologie Pediatrique, Hôpital des Enfants, Toulouse, France
10. UF de Génétique Clinique, GH Pitié Salpêtrière, Paris, France
11. Service de Pédiatrie, Hôpital Universitaire Carémeau, Nïmes, France
12. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
13. Centre de Référence des Maladies Héréditaires du Métabolisme, Hôpital d'Enfants CHU Brabois, Vandoeuvre-lès-Nancy, France
14. Service de génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
15. Service de Pédiatrie, APHP, Hôpital Louis Mourier, Colombes, France
16. Service de Pédiatrie, CH de Bayonne, Bayonne, France
17. Fédération de Neurologie, Gh Pitié Salpêtrière, Paris, France
18. Department of Pediatric Neurology, Hospital for Children and Adolescents, Helsinki, Finlande
19. Unité Fonctionnelle de Génétique Médicale, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
20. Service de Neurologie Pédiatrique, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Bruxelles, Belgique
21. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France
22. UMR_S676, INSERM, Paris, France
23. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
24. Service de génétique, Hôpital Bretonneau, Tours, France
25. Servicio de Neuropsiquiatria Infantil, Hospital Clinico San Borja Arriaran, Santiago, Chili
26. Neuropsichiatria Infantile, Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano, Italie
27. Centre de Référence des Maladies Métaboliques, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
28. Service de Neurologie Pédiatrique, CHRU de Lille, Lille, France

De nombreux patients atteints de maladie d'Alexander (AXD) et porteurs d'une mutation dans le gène GFAP ont été rapportés. Ils se répartissent selon deux plusieurs phénotypes: forme pédiatrique débutant avant 2 ans, forme juvénile débutant avant 13 ans et forme adulte débutant après 13 ans. Les circonstances du diagnostic de la maladie et la description de son histoire naturelle ont été modifiées par la découverte du gène.

Nous rapportons 42 patients porteurs d'une mutation dans GFAP diagnostiqués en France depuis 10 ans. Dans tous les cas, l'imagerie cérébrale, différente selon l'âge, avait suggéré le diagnostic. La majorité des patients (37/42) était des enfants atteints d'un retard du développement inaugural, les autres ayant un développement initialement normal. Le diagnostic était fait à un âge préscolaire chez la plupart des enfants (33/37). Une dégradation neurologique était constatée chez la moitié ayant un retard des acquisitions inaugural à un âge moyen de 5,4 ans et à une âge moyen de 2,5 ans dans le groupe sans retard initial. Elle portait sur les fonctions motrices avant de toucher le secteur cognitif. Les signes moteurs étaient constatés chez tous les malades, en moyenne après 3 ans. La moitié des patients des deux groupes avaient une macrocéphalie. Une épilepsie s'était déclarée chez 24 enfants à un âge moyen de 2,4 ans. L'IRM cérébrale montrait une leucoencéphalopathie à prédominance frontale chez tous les patients associée à un hypersignal des noyaux gris. Chez 4 enfants le diagnostic avait été fait à l'âge

scolaire, l'histoire naturelle de la maladie se différenciant du tableau clinique infantile par 1) l'absence de retard initial des acquisitions, 2) l'apparition d'une épilepsie, de troubles moteurs et/ou cognitifs d'aggravation progressive.
Les 5 patients adultes avaient une atteinte motrice progressive au premier plan (ataxie cérébelleuse, hémiplégie spastique ou dystonie hémi-corporelle). Aucun n'avait d'épilepsie, ni de macrocéphalie, ni de retard du développement. Une dégénérescence rétinienne était rapportée dans une famille. L'IRM cérébrale montrait une atteinte prédominant au niveau de la fosse postérieure.
Nous concluons que le diagnostic d'AXD est posé devant une IRM cérébrale évocatrice quelque soit l'âge de début. Il est posé grâce à l'IRM cérébrale 1) chez un enfant ayant un retard du développement psychomoteur apparemment fixé, l'âge de la régression neurologique n'étant pas prédictible, 2) chez un enfant ou un adulte développant les signes d'une maladie neurodégénérative. Notre étude suggère un continuum phénotypique rendant l'établissement d'un pronostic difficile à court ou moyen terme. Elle met en évidence l'existence d'une fenêtre d'action thérapeutique potentielle pour la plupart des enfants chez qui le diagnostic a été fait sur la base de l'IRM cérébrale combinée à l'étude moléculaire avant l'apparition d'une dégradation neurologique.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P229 - COMPLICATIONS OBSTETRICALES AU COURS DU SYNDROME D'EHLERS-DANLOS VASCULAIRE : ETUDE RETROSPECTIVE DE 72 GROSSESSES. (VASCULAR EHLERS-DANLOS SYNDROME OBSTETRICAL COMPLICATIONS : A RETROSPECTIVE STUDY ON 72 PREGNANCIES.)

J Emmerich (1), JN Fiessinger (2), M Frank (3), L Golmard (4), X Jeunemaitre (5), D Molière (4), J Perdu (6)

1. Service de Médecine Vasculaire/HTA et et Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares, Hôpital européen Georges Pompidou, APHP, Paris, France
2. Service de Médecine Vasculaire/HTA et Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares, Hôpital européen Georges Pompidou, APHP, Paris, France
3. Centre de Références des Maladies Vasculaires Rares, Hôpital européen Georges Pompidou, APHP, Paris, France
4. Service de Génétique, Hôpital européen Georges Pompidou, APHP, Paris, France
5. Service de Génétique et Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares, Hôpital européen Georges Pompidou, APHP, Paris, France
6. Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares, Hôpital européen Georges Pompidou, APHP, Paris, France

Objectifs

Le syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire (SEDv ; OMIM #13050) est une maladie génétique rare de transmission autosomique dominante, secondaire à une mutation du gène COL3A1 qui code pour le collagène de type III. La pathologie est associée à fragilité extrême des parois artérielles, intestinales et utérines. La grossesse est une situation à risque avec une morbidité et une mortalité maternelles périnatale possiblement élevées. Les connaissances relatives aux complications obstétricales du SEDv dans le péripartum restent peu connues.

Matériel et Méthode

Les patientes atteintes de SEDv suivies dans notre centre ont été incluses dans une étude observationnelle rétrospective. Une observation détaillée concernant le déroulement de chaque grossesse a été réalisé. Les principales variables recueillies étaient le type de mutation, la date du diagnostic, le nombre de grossesses, la date des accouchements, le type d'anesthésie, le mode d'accouchement, la survenue de complications vasculaires, utérines ou périnéales. Le poids et la taille de naissance, ainsi que le score Apgar ont été recueillis à partir du carnet de santé de chaque enfant.

Résultats

36 patientes ont été incluses dans l'étude, totalisant 72 grossesses, dont 48 (66.6%) à terme, 15 (20.8%) fausses couches spontanées, 6 (10.8%) interruptions volontaires de grossesse et 1 (1.38%) grossesse extra-utérine. L'âge moyen à la première grossesse était de 27.5 ± 5.2 ans et le terme moyen de 37.5 ± 2.15 semaines. Le poids et la taille moyenne des nouveau-nés étaient conformes au terme de la grossesse. La majorité des accouchements (75%) a été marquée par la survenue d'une complication majeure : un évènement artériel (rupture de l'aorte, dissection vertébrale) est survenu au décours de 2 accouchements (4.16%) et le taux de mortalité maternelle était de 3.8%. La procédure d'accouchement par voie basse a été marquée par la survenue de déchirures périnéales (n=24, 50%), dont 9 (18,8%) complètes. L'accouchement par césarienne était marqué par des complications hémorragiques (n=7, 14.6%) dont 5 chocs avec transfusions sanguines et 1 hystérectomie d'hémostase. Les autres complications majeures étaient une rupture de pilier de la valve mitrale, une rupture du côlon et une perforation vésicale. Il n'a pas été mis en évidence de corrélation significative entre le génotype, le type et la fréquence des complications obstétricales.

Conclusion

L'accouchement au cours du SEDv est marqué par un taux élevé de complications, principalement hémorragiques en cas de césarienne, et périnéales en cas d'accouchement par

voie basse, en l'absence d'hypotrophie fœtale. L'incidence de la mortalité semble inférieure aux précédentes estimations de la littérature.

Mots-clefs : syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire ; collagène de type III grossesse ; complications obstétricales.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P230 - LA DYSPLASIE OCULO-DENTO DIGITALE : ETUDE CLINIQUE D'UNE FAMILLE TUNISIENNE

OCULODENTODIGITAL DYSPLASIA : CLINICAL STUDY ABOUT A TUNISIAN FAMILY

MOTS CLES : DYSPLASIE OCULO-DENTO-DIGITALE, AUTOSOMIQUE DOMINANTE

S Hizem (1), L Ben Jemaa (1), F Maazoul (2), H Jilani (1), Y Elaribi (1), A Attig (1), R sakka (1), Z Marrakchi (3), H Chaabouni (1)

1. service des maladies congénitales et héréditaires, EPS Charles Nicolle, TUNIS, Tunisie
2. service des maladies congénitales et héréditaires, E, TUNIS, Tunisie
3. service de néonatologie, EPS Charles Nicolle, TUNIS, Tunisie

La dysplasie oculo-dento digitale (DODD) est une maladie héréditaire rare qui associe des anomalie cranio-faciales, oculaires, squelettiques et neurologiques. Ses principales manifestations incluent une microphtalmie, une hypoplasie de l'émail dentaire et une syndactylie. Ce syndrome est transmis sur le mode autosomique dominant avec une pénétrance complète et une importante variabilité phénotypique intra et inter familiale. Il est du à des mutations hétérozygotes du gène GJA1 situé sur le bras long du chromosome 6 (6q22-q23) codant pour une protéine de la jonction lacunaire : la connexine 43.

Dans ce travail nous rapportons une observation à propos d'une forme familiale de DODD. Le cas index est un nourrisson de sexe féminin âgé d'un mois, issu d'un mariage non consanguin, qui présente une microcornée, des narines étroites antéversées, une columelle saillante et une syndactylie totale bilatérale entre le 4ème et le 5ème doigt. La mère, âgée de 30 ans, présente une microcornée, un nez en bec, une hypoplasie de l'émail dentaire, une syndactylie bilatérale entre le 4ème et le 5ème doigts, un steppage du membre inférieur gauche et une énurésie primaire. Le grand-père, la tante et l'oncle maternels présentent également une syndactylie, des anomalies de l'émail dentaire et une énurésie ; ceci atteste bien du caractère autosomique dominant et de la pénétrance complète de cette affection. Plus de 40 mutations responsables de la maladie ont été identifiées. Nous projetons de compléter l'étude moléculaire du gène GJA1 chez notre famille à la recherche de la mutation en cause.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P231 - LA MUTATION RECURRENTE OPA1DELTTAG EST RESPONSABLE D'UNE NOUVELLE MALADIE POLY-NEURODEGENERATIVE CAUSEE PAR UN DEFICIT TISSU ET METABOLISME-SPECIFIQUE DU COMPLEXE IV ET UNE INSTABILITE DES SUPERCOMPLEXES CHEZ LA SOURIS.

E Sarzi (1), C Angebault (2), N Gueguen (2), M Seveno (1), G Bielicki (3), B Chaix (1), N Boddaert (4), AL Bonnefont (5), C Cazevieille (6), JP Renou (3), V Rigau (7), J Wang (1), C Delettre (1), P Brabet (1), C Hamel (8), P Reynier (2), G Lenaers (1)

1. Inserm 1051, Institut des Neurosciences de Montpellier, Montpellier, France
2. Service de Biochimie et de Génétique, CHU Angers, Angers, France
3. Inra, Plateforme de Résonance Magnétique des systèmes Biologiques., Saint-Genes Champanelle, France
4. Service de radiologie pédiatrique, Hôpital Necker, Paris, France
5. Inserm U844, Institut des Neurosciences de Montpellier, Montpellier, France
6. CRIC, CRIC, montpellier, France
7. Service d'anatomie et cytologie pathologique, Hôpital Guy de Chauliac, Montpellier, France
8. Inserm 1051, Institut des Neurosciences de Montpellier, montpellier, France

Le gène OPA1 code pour une dynamine mitochondriale impliquée dans les processus cellulaires essentiels comme la stabilisation de la dynamique mitochondriale, la phosphorylation oxydative, l'apoptose et plus récemment, le maintient de l'ADN mitochondrial (ADNmt). Depuis les années 2000, les mutations identifiées dans le gène OPA1 sont connues pour engendrer une neuropathie optique isolée, l'Atrophie Optique Dominante (AOD). Récemment, de meilleures connaissances du gène OPA1 associées à des investigations cliniques approfondies des patients atteints d'AOD ont permis de décortiquer le spectre clinique présenté par les patients mutés. L'éventail de ce spectre s'en trouve aujourd'hui élargi et s'étend d'une neuropathie optique isolée jusqu'à de sévères syndromes multi-systémiques, qualifiés d'AOD+, similaires à ceux associés aux maladies héréditaires de la chaine respiratoire liés à une instabilité de l'ADNmt. Nous décrivons aujourd'hui une nouvelle lignée mutante du gène Opa1 portant la mutation récurrente Opa1delTTAG retrouvée chez 30% des patients AOD. Les souris mutantes présentent un phénotype d'AOD+ multi-systemique sévère non décrit dans les deux autres modèles murins d'AOD précédemment rapportés. La caractérisation poussée de ce modèle démontre que cette mutation cause une maladie poly-neurodégénérative, les souris mutées développant une atteinte des fonctions visuelle et auditive, une myopathie, une encéphalopathie, une neuropathie périphérique, une ataxie ainsi que des altérations de la structure du muscle cardiaque.

Ce travail étend considérablement les connaissances de la physiopathologie de l'AOD associée au gène OPA1. En effet, nous montrons pour la première fois, qu'un déficit précoce, tissu et métabolisme spécifique du complexe IV et une instabilité des supercomplexes sont responsables des phénotypes dans la rétine, le nerf optique et le muscle glycolytique. De manière surprenante, nous montrons que, tout comme pour les maladies d'Alzheimer et Pakinson, une altération de la mitophagie participe à la physiopathologie de l'AOD, alors que l'instabilité de l'ADNmt retrouvée chez les patients AOD n'a pas été mis en évidence. Au delà de son intérêt dans la compréhension des maladies associées au gène OPA1, ce nouveau modèle murin fourni l'unique modèle animal syndromique pour investiguer en profondeur la physiopathologie et les possibilités de traitement des maladies poly-neurodégénératives liées à une altération de la fonction mitochondriale.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P232 - GANGLIOSIDOSES A GM1 - ETUDE D'UNE COHORTE DE 17 PATIENTS DONT L'ANALYSE MOLECULAIRE A ETE REALISEE AU CHU DE ROUEN DEPUIS 2007

S Torre (1), A Goldenberg (2), AM Devaux (1), H Drangué (3), C Pilon (3), P Saugier-Veber (4), V Valayannopoulos (5), S Marret (1), S Bekri (3)

1. Service de Pédiatrie Néonatale et Réanimation, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
2. Unité de Génétique Clinique, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
3. Laboratoire de Biochimie Médicale, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
4. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
5. Service des Maladies du Métabolisme, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

La gangliosidose à GM1 est une maladie lysosomale de surcharge affectant le métabolisme des sphingolipides. C'est une maladie autosomique récessive rare liée au déficit de l'enzyme β-galactosidase. Elle est caractérisée par une régression psychomotrice constante associée à une dysostose. Trois formes cliniques ont été décrites selon l'âge de début de la maladie. Le type 1 ou forme infantile à début précoce, est la forme la plus fréquente et la plus sévère avec un décès habituel avant 2 ans. La β-galactosidase a pour fonction d'hydrolyser le résidu β-galactosyl terminal de différents substrats : ganglioside à GM1, kératane sulfate et oligosaccharides des glycoprotéines. Le déficit en β-galactosidase est responsable de deux phénotypes différents : les gangliosiodes à GM1 et la maladie de Morquio B (MPS IV) caractérisée par une atteinte osseuse prédominante l'excrétion importante de keratane sulftae dans les urines et par l'absence de signes neurologiques. Le gène (GLB1) de la β-galactosidase est situé sur le bras court du chromosome 3 (3p21.33). Plus de 100 mutations du gène GLB1 ont été identifiées, peu sont prédictives d'un phénotype particulier.

L'étude moléculaire du gène GLB1 réalisée au CHU de Rouen dans le cadre du Programme National du Soutien au Diagnostic des Maladies rares a permis l'étude descriptive de 17 cas index diagnostiqués depuis 2007. Le suivi clinique a été renseigné pour 12 patients. Il y a 7 décès à un âge moyen de 18 mois. Parmi les10 patients avec une forme type 1 les données cliniques de notre cohorte sont conformes à celles observées dans la littérature : hypotonie constante, atteinte ophtalmologique fréquente, régression psychomotrice. Nous retrouvons plus de cas d'épilepsie (7/10). Les signes de surcharge sont fréquents mais non systématiques. Nous avons observé un cas avec une atteinte cardiaque. Les 2 cas avec une forme de type 2 présentent un début des signes vers l'âge de 3 ans à type de trouble de la marche et de troubles du comportement. Nous avons décrit 17 mutations, dans tous les cas 2 allèles étaient mutés. Six mutations n'ont jamais été décrites auparavant : c.216G>A (p.Met72Ile), c.439C>T (p.Leu147Phe), c.623G>C (p.Arg208Pro), c.1456G>A (p.Gly486Ser), c.1577G>A (p.Gly526Asp) et c.1810C>T (p.Pro604Ser). Nous confirmons la grande hétérogénéité des mutations du gène GLB1 et des corrélations phénotypes-génotypes sont difficiles à définir, cependant certaines mutations semblent prévisibles de phénotype, par exemple la mutation c.602G>A prédictive des formes de type 2 et protectrices d'atteintes sévères. La réalisation de l'étude moléculaire du gène GLB1 a permis de développer le DPN pour cette pathologie rare au pronostic défavorable. Onze diagnostics prénatals ont été réalisés depuis 2007.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P233 - CORRELATION PHENOTYPE-GENOTYPE DANS LE SYNDROME D'EHLERS-DANLOS VASCULAIRE. (PHENOTYPE-GENOTYPE CORRELATIONS IN VASCULAR EHLERS-DANLOS SYNDROME.)

L Bal-Théolyre (1), N Denarie (2), J Emmerich (3), AL Fauret (4), JN Fiessinger (5), M Frank (6), D Germain (7), L Golmard (8), X Jeunemaitre (9), P Khau Van Kien (10), E Messas (5), H Plauchu (11), B Ranque (12), C Travers (8)

1. Service de Médecine Vasculaire/HTA, Hôpital européen Georges Pompidou, APHP, Paris, France
2. Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
3. Service de Médecine Vasculaire/HTA et et Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares, Hôpital européen Georges Pompidou, APHP, Paris, France
4. Service de Génétique, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
5. Service de Médecine Vasculaire/HTA et Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares, Hôpital européen Georges Pompidou, APHP, Paris, France
6. Centre de Références des Maladies Vasculaires Rares, Hôpital européen Georges Pompidou, APHP, Paris, France
7. Service de Génétique, Hôpital Raymond Poincaré, APHP, Garches, France
8. Service de Génétique, Hôpital européen Georges Pompidou, APHP, Paris, France
9. Service de Génétique et Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares, Hôpital européen Georges Pompidou, APHP, Paris, France
10. Service de Génétique, CHU Montpellier, Montpellier, France
11. Service de Génétique, Hôpital de l'Hôtel-Dieu, Lyon, France
12. Service de Médecine Interne, Hôpital européen Georges Pompidou, APHP, Paris, France

Objectifs : Le syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire (SEDv; OMIM#130050) est une maladie rare à transmission autosomique dominante causée par des mutations dans le gène COL3A1, typiquement des mutations faux-sens sur une glycine. L'évolution de la maladie est marquée par la survenue de complications vasculaires, digestives et obstétricales mettant en jeu le pronostic vital et résultant en une mortalité précoce élevée. Malgré un nombre croissant de données témoignant d'une grande hétérogénéité dans l'expression clinique de la maladie, l'existence d'une corrélation génotype-phénotype n'a pas été démontrée.

Méthodes : Tous les patients SEDv porteurs d'une mutation pathogène du gène COL3A1 suivis dans notre centre ont été inclus dans une étude de cohorte rétrospective. Les caractéristiques phénotypiques, la nature des complications imputables à la maladie et leur chronologie ont été colligées dans une base de données.

Résultats : 134 patients SEDv (93 cas index et 41 apparentés) porteurs d'une mutation pathogène de COL3A1 ont été inclus dans l'étude et classés en fonction du type de mutation. Un total de 66 mutations ont été identifiés chez 93 cas index (âge médian 33 ans [24-40], 63% de femmes) et 41 apparentés (âge 39 ans [19-53], 54% de femmes). Une majorité de cas index (91%) a présenté au moins un évènement artériel, digestif ou obstétrical au moment du diagnostic, vs. 61% des apparentés. Les patients ont été repartis en 3 groupes selon le type de mutation: groupe I) mutations faux-sens sur une glycine (n=77), groupe II) mutations non-sens et d'épissage, insertions et délétions (n=35), et groupe III) mutations faux-sens non glycine (n=22). La présentation physique (critères de Villefranche) des groupes I et II était similaire, alors que le groupe III était caractérisé par un morphotype plus discret (p

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P234 - PRESENTATION NEUROLOGIQUE ET DIGESTIVE D'UNE MUTATION DE FILAMINE A : ETUDES CLINIQUE, MOLECULAIRE ET FONCTIONNELLE

P Fergelot (1), J Pilliod (2), E Maurat (2), E Collin (3), D Bonneau (3), B Arveiler (2), D Lacombe (2), I Coupry (2), C Goizet (2)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme (MRGM), EA4576, Université Bordeaux, Bordeaux, France
3. Service de Génétique, CHU Angers, Angers, France

Introduction

Les hétérotopies nodulaires périventriculaires (HNP) représentent le phénotype le plus fréquent causé par les mutations de FLNA situé sur le chromosome X et codant pour la filamine A. La filamine A est une protéine du cytosquelette se liant à l'actine et permettant de moduler de nombreuses fonctions cellulaires grâce à son interaction avec de nombreux partenaires protéiques. Les HNP sont responsables d'une épilepsie de sévérité variable avec ou sans déficience intellectuelle. Elles peuvent être isolées ou bien associées à divers signes neurologiques ou extra-neurologiques incluant un syndrome d'Ehler-Danlos, une dilatation de la crosse de l'aorte ou une thrombopénie. Une constipation opiniâtre familiale causée par une pseudo-obstruction intestinale chronique (POIC) a également été décrite dans une famille (Gargiulo et al, 2007).

Matériels et Méthodes

Nous rapportons une nouvelle famille présentant l'association HNP et malformation digestive chez plusieurs cas masculins. Les exons codants du gène FLNA ont été analysés par HRM ou séquençage direct. Des analyses fonctionnelles ont été réalisées sur des cultures primaires de fibroblastes obtenues auprès du cas index.

Résultats

Nous avons identifié une nouvelle mutation de FLNA, c.7941_7942 delC, p.X2648SerfsX101 chez le cas index, un homme de 28 ans. Cette mutation, héritée du coté maternel, abolit le codon stop et laisse supposer une protéine rallongée de 100 AA. Le transcrit a été amplifié normalement par RT-PCR suggérant que celui-ci est stable. Les études en western blot et en immunocytochimie sur fibroblastes ont permis de mettre en évidence une diminution de l'expression et une anomalie de distribution de l'actine et de certaines protéines d'adhésion. La mesure du niveau de respiration mitochondriale et l'étude de la morphologie du réseau n'ont pas révélé d'anomalie.

Discussion

Nos résultats appuient certaines données de la littérature. Des anomalies du cytosquelette d'actine avaient déjà été visualisées sur des lymphocytes en culture d'un homme présentant la même association syndromique en lien avec une mutation de FLNA. Nos données appuient également les travaux suggérant que des perturbations affectant des molécules d'adhésion sont directement impliquées dans les anomalies de la migration des neurones aboutissant aux HNP.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P235 - OBSERVATION FAMILIALE DU SYNDROME EEM A TRANSMISSION RECESSIVE LIEE A L'X

N ABOUSSAIR (1), O Hocar (2), S amal (2), G draiss (3), M Bouskraoui (3)

1. Génétique, CHU Mohammed VI de Marrakech, Faculté de Médecine de Marrakech, université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc
2. Dermatologie, CHU Mohammed VI de Marrakech, Marrakech, Maroc
3. Pédiatrie A, CHU Mohammed VI de Marrakech, Marrakech, Maroc

Le syndrome EEM est caractérisé par l'association d'une dysplasie ectodermique, d'une ectrodactylie, et d'une dystrophie maculaire. Jusqu'alors, il a été décrit chez des membres de sept familles. Une hypotrichose, des anomalies dentaires, et l'absence de sourcils ont également été rapportées. Le syndrome EEM semble être transmis de façon autosomique récessive et peut être causé par des mutations du gène de la cadhérine 3 (CH3, 16q22.1).

Nous rapportons dans ce travail , une observation Marocaine du syndrome EEM , colligée au service de génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech. Il s'agit d'un nourrisson , non consanguin et de sexe masculin et qui présente une hypotrichose associée à une ectrodactylie médiane droite, une hypotrophie , un retard des acquisitions psychomotrices et une photophobie . En outre , le fond d'œil a mis en évidence une dystrophie maculaire. Ce tableau clinique ,est en faveur d'un syndrome d'EEM. Par ailleurs, l'étude généalogique a mis en évidence, deux autres cas similaires chez des enfants de sexe masculin et dans la même branche maternelle que notre propositus ce qui est évocateur d'une transmission récessive liée à l'X.

A travers cette observation et une revue de la littérature , nous rapportons une observation familiale Marocaine du syndrome d'EEM à transmission récessive liée à l'X.

Mots clés : Syndrome d'EEM, transmission RLX

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P236 - PERTINENCE DE DIFFERENTS MODELES CELLULAIRE POUR DEMONTRER LE CARACTERE DELETERE DE MUTATIONS DU GENE CODANT LE TRANSPORTEUR DES HORMONES THYROÏDIENNES MONOCARBOXYLATE 8 (MCT8) ET L'EXISTENCE D'UNE CORRELATION GENOTYPE-PHENOTYPE.

Y CAPRI (1), ECH FRIESEMA (2), S KERSSEBOOM (2), R TOURAINE (3), A MONNIER (1), V DES PORTES (4), G De MICHELE (5), A BRADY (6), TJ VISSER (2), O BOESPFLUG-TANGUY (1), C VAURS-BARRIERE (1)

1. INSERM, UMR 931, CNRS 6247, GReD, Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand, France
2. Department of Internal Medicine, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, Pays-bas
3. Department of Clinical Chromosomal and Molecular Genetics, CHU St Etienne, Saint Etienne, France
4. Neuro-Paediatric Department, Debrousse Hospital, Lyon, France
5. Dipartimento di Scienze Neurologiche, Università di Napoli Federico II, Napoli, Italie
6. Clinical Genetics, Kennedy-Galton Center, Middlesex, Royaume-Uni

Le gène transporteur monocarboxylate 8 (MCT8), localisé sur le chromosome X, code un transporteur spécifique des hormones thyroïdiennes (HT) permettant l'entrée des HT dans leurs cellules cibles. Chez l'homme, des mutations perte de fonction de MCT8 sont impliquées dans des défauts de développement psychomoteur variant de sévère (pas d'acquisition motrice et retard mental profond) à modéré (paraplégie spastique).

Nous rapportons 3 nouvelles mutations du gène MCT8, incluant une mutation faux-sens pour laquelle un effet délétère n'est pas prédit par plusieurs logiciels de prédiction. Des tests fonctionnels ex vivo et in vitro, utilisant les fibroblastes des patients ou des cellules JEG3 transfectées, ont été réalisés pour étudier l'impact fonctionnel de 6 mutations (dont les 3 nouvellement identifiées). Les 2 modèles cellulaires ont montré que toutes les mutations testées affectent le transport des HT, validant donc leur caractère délétère. Parmi les 6 mutations, deux correspondent à un phénotype modéré (une faux-sens et un décalage de lecture rallongeant la protéine sauvage) alors que les 4 autres correspondent à un phénotype sévère (deux faux-sens, une nonsense et une délétion du gène). Dans les fibroblastes, le transport des HT est affecté de façon similaire pour les 6 patients. Par contre, la diminution de transport mesurée dans les cellules JEG3 est moins importante avec les mutations associées aux phénotypes modérés par rapport aux mutations associées aux phénotypes sévères. Une analyse plus large de 31 mutations (dont 4 identifiées chez des patients avec un phénotype modéré) a été réalisée dans les cellules JEG3 et a montré que le transport de T3 est systématiquement moins affecté uniquement avec les mutations associées aux phénotypes modérés. Une explication de la sensibilité accrue de ce modèle pour mettre en évidence une relation génotype-phénotype pourrait être le fort taux d'expression des protéines mutantes dans les cellules transfectées. L'analyse des niveaux d'expression des transcrits MCT8 au cours du développement cérébral humain, comparant des échantillons cérébraux fœtaux de 15 à 40 semaines de gestation (SG) par rapport à des cerveaux post-natal et adultes, montre que MCT8 est très fortement exprimé au cours du développement (4 à 12 fois l'expression dans le cerveau adulte) avec un pic d'expression autour de 20 SG. Une expression forte de MCT8 étant retrouvée dans le cerveau fœtal, il apparaît donc possible que la sévérité du phénotype des patients puisse être liée au génotype dû à une expression forte de MCT8 dans les cellules cibles telles que les neurones et les oligodendrocytes au cours du développement du SNC.

En conclusion, ce travail démontre l'utilité des tests ex vivo ou in vitro pour attester du caractère délétère des mutations MCT8 et suggère qu'une relation génotype-phénotype existe in vivo, potentiellement liée à des niveaux d'expression importants de MCT8 dans les cellules cibles du SNC au cours du développement.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P237 - L'EPILEPSIE DANS LE SYNDROME D'ANGELMAN: A PROPOS DE 9 CAS TUNISIENS

L B Jemaa (1), H Chaabouni (1), M Chaabouni (1), N Khouja (2), Y Laribi (1), R M'rad (1), F Maazoul (1), R meddeb (1), I Ouertani (1), M Trabelsi (1)

1. service des maladies congenitales et hereditaires, hopital Charles Nicole, tunis, Tunisie
2. service de neuro-pediatrie, institut de neurologie, tunis, Tunisie

Le syndrome d'Angelman (SA) est une maladie neurogénétique rare. Il est caractérisé cliniquement par une déficience mentale sévère avec absence du langage, des troubles du développement moteur, une dysmorphie faciale caractéristique avec microcéphalie, des crises d'épilepsie et un comportement unique avec jovialité et rires immotivés. L'épilepsie, généralement à type d'absences atypiques et de myoclonies, est présente dans 85 à 90% des cas et débute souvent avant l'âge de 3ans. Elle est associée à des anomalies électroencéphalographiques caractéristiques.

Sur le plan génétique, le SA est du essentiellement à une perte de fonction du gène UBE3A d'origine maternelle, localisé au niveau de la région 15q11-q13, qui est soumise à empreinte. Plusieurs mécanismes sont impliqués incluant une délétion maternelle (75%), une disomie uniparentale paternelle (3-5%), une mutation du centre de l'empreinte ou une mutation du gène UBE3A (20-30%).

Dans ce travail nous proposons d'étudier les manifestations neurologiques chez 9 patients chez qui le diagnostic du SA a été confirmé par une étude de la méthylation du chromosome 15. 66% de ces patients présentent une micro délétion de la région 15q11-q13, révélée par (FISH).

L'épilepsie est retrouvée chez 77,7%.des patients. Ce taux est inferieur à celui retrouvé dans la littérature. Il s'agit d'une crise tonico-clonique dans 3 cas, une crise hypotonique chez 3 patients et une crise tonique chez un patient. En outre, aucun cas d'absence ni de myoclonie n'a été signalé. Les crises ont débuté à un âge précoce (

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P238 - RESULTS OF THE GENETIC SCREENING OF NEW CANDIDATE GENES IN ARRHYTHMOGENIC RIGHT VENTRICULAR CARDIOMYOPATHY

E Gandjbakhch (1), F Gary (2), V Fressart (3), A Vite (2), M Komajda (1), P Charron (4), E Villard (2)
1. Service de Cardiologie, Hopital Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. UMR956, INSERM, Paris, France
3. Service de Biochimie Métabolique Unité de Cardiogénétique, Hopital Pitié Salpêtrière, Paris, France
4. Serice de Génétique, Hopital Pitié Salpêtrière, Paris, France

Results of the genetic screening of new candidate genes in Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy

Résultats du criblage de nouveaux gènes candidats dans la Dysplasie Arythmogène du Ventricule Droit.

E. Gandjbakhch1,2, F. Gary1, V. Fressard3, A. Vite1, F. Simon3, M. Komajda1,2, P. Charron1,2,4, E. Villard1

1 UPMC Univ Paris 6, INSERM, UMR-S956, AP-HP, 91 Boulevard de l'Hôpital F-75013 PARIS, France
2 AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Département de Cardiologie, Paris, F-75013, France;
3 AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Service de Biochimie Métabolique, Unité de Cardiogénétique et Myogénétique, Paris, F-75013, France;
4 AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Département de Génétique, Paris, F-75013, France

Aims
Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC) is an inherited cardiomyopathy characterised by fibro-fatty replacement of the right ventricle leading to life threatening ventricular arrhythmias. Until now, 8 different genes have been identified as disease causing, most of them coding for major cardiac desmosomal components. Nevertheless, these genes only account for 50% of cases. We therefore hypothesized that other genes coding for proteins involved in cardiac desmosomal structure/function or in calcium homeostasis could be associated with ARVC. We also searched for mutations located in potential miRNA target sequences of PKP2 and DSG2, two major ARVC-causing genes.

Results
We screened by direct sequencing a population of 64 probands with no mutation identified in the five known desmosomal genes (PKP2, DSG2, DSP, DSC2 and JUP) for mutations in PININ, CTNNA3, PKP4, PERP and PLN. We identified two new missense variants, c.175G>A (p.Gly59Arg) in PERP and c.1811 A>G (p.Asp604Gly) in PKP4 in two different probands. Each of those variants was also identified in two healthy controls out of 400 and was then considered as rare polymorphism. No putative variant was identified in PININ, CTNNA3 or PLN.
The c.3036 A>G variant was identified in the 3'UTR of PKP2 but was not considered as deleterious as it was not located in a miRNA target sequence. No variant was identified in the 3'UTR of DSG2.

Conclusion
PININ, CTNNA3, PKP4, PERP and PLN are not associated with ARVC in this cohort. In addition, misexpression of desmosomal genes due to mutations in miRNA target sequences doesn't appear to be a mechanism involved in the disease. This study underlies the limitations of the

candidate gene screening strategy in ARVC. New methods as "next generation sequencing" will provide more accurate tools to identify new genetic causes of this disease.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P239 - ROBUST MULTIPLEX TEST FOR PROTHROMBIN G20210A MUTATION, FVL G1691A MUTATION AND MTHFR C677T POLYMORPHISM.

K Hamzi (1), S Nadifi (2)
1. LGPM, faculté de médecine, CASABLANCA, Maroc
2. LGPM, Faculté de médecine, CASABLANCA, Maroc

Stroke or "brain attack" is a complex disease caused by a combination of multiple risk factors. It has major social and economic consequences. Genetic tests for risk factors for venous thromboembolism are increasingly available. Around the world, Lab's tests are specially done for Factor V of Leiden, prothrombin and MTHFR mutations (1). We report the results of an economic, fast and reproducible multiplex test for simultaneous detection of Prothrombin G20210A mutation, Factor V Leiden G1691A mutation and methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism. Blood samples were collected in tubes containing EDTA from 33 stroke patients; Total genomic DNA was isolated from leukocytes using phenol chloroform extraction. The MTHFR C677T, FVL G1691A and FII G20210A polymorphisms were identified by PCR amplification, with appropriate primers, followed by enzymatic digestion. This multiplex test allowed us to have a robust genotyping of thrombophilia genes and the time economy. It can be used as a routine lab's test not only for cerebral stroke but all thromboembolic events which have as an important genetic basis the Prothrombin G20210A mutation, Factor V Leiden G1691A mutation and methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P240 - PCR-RFLP, SEQUENCING AND QUANTIFICATION IN MOLECULAR DIAGNOSIS OF SPINAL MUSCULAR ATROPHY (SMA): LIMITS AND ADVANTAGES.

K Hamzi (1), S Nadifi (2)
1. LGPM, faculté de médecine, CASABLANCA, Maroc
2. LGPM, Faculté de médecine, CASABLANCA, Maroc

Spinal muscular atrophy (SMA) is a severe neuromuscular disease. It is common cause of infant mortality. Its incidence is estimated at 1 in 10,000 (1) Clinically, age of onset and the symptoms can distinguish four types of SMA (2). Type 1 was the most severe form of SMA (Werdnig-Hoffman Syndrome). it appears before six months, and life expectancy does not exceed 7 years (3). Type 2 onsets before 18 months and patients are able to sit, but always walk with support. Patients with SMA type 3 or Kugelberg-Welander disease can walk without aid. For Type 3 or Kugelberg-Welander, patients can walk unaided .However, SMA type 4 or Adult form appears after 30 years (4). The gene SMN (survival motor neuron) was located on chromosome 5q13. There are two nearly identical copies (SMN1 / telomeric and SMN2 / Centromeric) (5). The sequence homology between genes SMN1 and SMN2 is 99% with only five nucleotide differences (6). SMA is caused by a homozygous deletion of exon 7 (+ / - exon 8) of SMN1 gene. Thus, the number of SMN2 copies determines the severity of the SMA (7). It has been shown that mild forms of SMA (3 and 4) are associated with more than two copies of SMN2 (8).
The presence of SMNc , the sequence homology with SMNt well as the correlation between the phenotype and number of copies of SMN2 make molecular diagnosis difficult. Thus, many methods have been used for molecular diagnosis of SMA (RFLP-PCR, sequencing, quantification, ARMS-PCR ...)

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P241 - NOUVELLE MUTATION C.1978C>T DU GENE TCOF1 A L'ORIGINE D'UNE OBSERVATION FAMILIALE DU SYNDROME DE FRANCESCHETTI-KLEIN

N ABOUSSAIR (1), H aithammou (2), C Collet3 (3), JM Launay (4)

1. Génétique, CHU Mohammed VI de Marrakech, Faculté de Médecine de Marrakech, université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc
2. Génétique, CHU Mohammed VI, Marrakech, Marrakech, Maroc
3. Service de biochimie et de biologie moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris., Paris, France
4. Service de biochimie et de biologie moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris., paris, France

Le syndrome de Treacher Collins ou syndrome de Franceschetti-Klein est une maladie génétique à transmission autosomique dominante à expression variable. Son incidence est de l'ordre de 1/50 000 naissances. Sur le plan clinique, ce syndrome inclut une dysmorphie crânio-faciale caractéristique associée à une surdité de transmission secondaire à des anomalies de l'oreille externe. La prise en charge comprend un appareillage précoce des troubles de l'audition. Sur le plan génétique, cette pathologie est due le plus souvent à des mutations du gène TCOF1.Nous rapportons dans ce travail une observation de Treacher Collins colligée dans l'unité de Génétique Médicale du CHU Mohamed VI de Marrakech. Il s'agit d'une forme familiale à transmission autosomique dominante , concernant un nouveau né de sexe féminin présentant le tableau complet (dysmorphie crânio-faciale typique associée à des anomalies de l'oreille externe) alors que sa mère ne présente qu'une dysmorphie modérée associée à une hypoacousie ce qui illustre l'expression variable de cette pathologie. Dans cette famille, il y'a un risque de récurrence de 50% lors des grossesses ultérieures. Par conséquent, une étude moléculaire du gène TCOF1 a été effectuée chez la mère et sa fille et a mis en évidence la mutation c.1978C>T au niveau de l'exon 13 du gène TCOF1.A travers cette observations, nous soulignons l'intérêt de la consultation de génétique, pour établir le diagnostic, l'élaboration d'un conseil génétique adéquat ainsi que la proposition d'un diagnostic anténatal pour les couples qui le souhaitent.

Mots clés : Treacher Collins, Franceschetti-Klein, Gène TCOF1, Etude moléculaire, Conseil génétique.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P242 - SICKLE CELL DISEASE WITH RECURRENT STROKE IN A MOROCCAN FAMILY.

A BEN ITTO (1), K Hamzi (2), S Nadifi (3)
1. pediatrie, faculté de médecine, CASABLANCA, Maroc
2. LGPM, faculté de médecine, CASABLANCA, Maroc
3. LGPM, Faculté de médecine, CASABLANCA, Maroc

The sickle cell disease is a group of chronic hemolytic diseases who associate 3 types of injuries: severe anemia, severe infections and ischemic vaso-occlusive crisis(VOC), secondary conflicts between small vessels and red blood cells too deformable. Organic various complications may arise. Its prevalence in Europe is estimated at about 1 / 150 and reached 15% in the Mediterranean regions. Clinical manifestations vary widely from one person to another and from one moment to another. In addition to anemia and bacterial infections, vaso-occlusive crisis manifest by focal ischemia. In the long term, the VOC may compromise the functionality of a particular tissue or organ. The transmission is autosomal recessive. The sickle cell disease are determined by combinations of 2 alleles abnormal of beta globin gene including at least one carries the mutation beta 6 glu-val (Hb S).
We report the case of a girl aged of 11 years, who presented a 2 strokes in the interval of 8 months, which was manifested by a complete right hemiplegia and aphasia confirmed by head CT scan, the eletrophoresis of the hemoglobin and the molecular test had confirmed the diagnosis of sickle cell disease and we were allowed to spread better reflection on the prevention of stroke, which remains a frequent and serious complication of sickle cell disease.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P243 - IDENTIFICATION D'UNE NOUVELLE ENTITE CLINIQUE ALLELIQUE A XP-A

M Ben Rekaya (1), A Boughammoura-Bouatay (2), S Chebel (2), M Frih-Ayed (2), O Messaoud (1), I Mokhtar (3), M Zghal (3), S Abdelhak (1)

1. UR "Maladies Orphelines d'Origine Génétique", Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
2. Service de Neurologie, Hôpital Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie
3. Service de Dermatologie, Hôpital Habib Thameur, Tunis, Tunisie

Introduction: Le Xeroderma pigmentosum (XP) est une génodermatose rare qui résulte de l'altération de la voie de réparation par excision de nucléotides. Cette maladie prédispose au développement de cancers, notamment les cancers cutanés. Le XP est caractérisé par une hétérogénéité clinique associée à une hétérogénéité génétique avec 8 gènes impliqués. Parmi les groupes les plus fréquents en Tunisie et dans le monde, le XP-A. Ce dernier est caractérisé par la présence d'anomalies neurologiques en plus des symptômes cutanés communs.
Matériel et Méthodes: Dans la présente étude, nous nous intéressons à une famille dont certains membres souffrent de troubles neurologiques non spécifiques avec comme antécédents familiaux deux enfants atteints de la forme classique du XP-A. L'examen dermatologique à l'œil nu, a montré la présence de quelques macules pigmentées, monomorphes et discrètes qui ne sont pas évocatrices du XP. Cependant, l'examen au dermoscope a montré un aspect similaire à celui des lésions observées chez des patients XP-A.
Résultats: L'investigation moléculaire à la recherche de mutations au niveau du gène XPA chez les enfants atteints a montré la présence de la mutation p.R228X. Afin de vérifier la présence de cette mutation chez les parents, le séquençage direct a montré la présence d'une nouvelle mutation non-sens: p.H242SfsX4. La connaissance de la base moléculaire de cette nouvelle entité clinique a permis de réaliser un diagnostic présymptomatique pour un patient qui a bénéficié d'une prise en charge précoce.

Discussion: Bien que des études antérieures aient décrite des patients présentant des phénotypes modérés du XP-A, toutes les présentations cliniques avaient en commun la prononciation des manifestations cutanées par rapport aux troubles neurologiques. Cependant le présent travail est la première étude qui décrit une expression clinique du XP caractérisée par une atteinte cutanée discrète associée à des troubles neurologiques non spécifiques.
Conclusion: A partir de cette étude, nous pouvons conclure que des mutations au niveau du gène XPA peuvent conduire à des expressions phénotypiques variables dont probablement une bonne partie demeure sous-diagnostiquée.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P244 - LARGE-SCALE META-ANALYSIS OF GENETIC STUDIES IN ISCHEMIC STROKE: FIVE GENES INVOLVING 152,797 INDIVIDUALS.

K Hamzi (1), S Nadifi (2)

1. LGPM, faculté de médecine, CASABLANCA, Maroc
2. LGPM, Faculté de médecine, CASABLANCA, Maroc

Ischemic stroke descent has a genetic basis. Stroke represents a complex trait, which is assumed to be polygenic. On this topic, the role of a wide number of candidate genes has been investigated in stroke through association studies. We performed a literature-based systematic review of genetic association studies in stroke abound several populations. Odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals (CIs) were determined for each gene–disease association. Following a review of 300 manuscripts, five candidate gene variants were analyzed among 152,797 individuals (45,433 cases and 107,364 controls). For this five candidate genes studied, results are : the prothrombin OR is 1,57 (1,23-2,89), the factor V Leiden OR is 1,43 (0,67-6,24), the mean OR of angiotensin I converting enzyme (ACE) insertion/deletion (I/D) polymorphism is 1,11 (1,02-1,25), the summary OR for the C677T variant of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) is 1,23 (0,61-1,47) and the pooled OR for the apolipoprote

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P245 - LES MUTATIONS DYNAMIQUES: PHENEOMENE D'ANTICIPATION ET APPORT DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE

K Hamzi (1), S Nadifi (2)
1. LGPM, faculté de médecine, CASABLANCA, Maroc
2. LGPM, Faculté de médecine, CASABLANCA, Maroc

Les mutations dynamiques ou par expansion sont des mutations qui se caractérisent par la répétition d'un nombre fixe de nucléotides (CTG, CAG, CGG ...) Plusieurs maladies notamment neurologiques sont dues à ce type de mutation: l'X fragile, le maladie de Steinert, la maladie de Huntington, l'ataxie de Friedrich ... Ces mutations se caractérisent par l'augmentation du nombre de répétitions lors de la transmission à travers les générations, ce qui se manifeste par une aggravation clinique chez la descendance.

Nous prenons l'exemple de la maladie de Steinert qui est la dystonie musculaire la plus fréquente à l'échelle mondiale et qui se caractérise par une atteinte multiviscérale ; musculaire, oculaire, respiratoire, endocrinienne… et cardiaque pouvant mettre en jeu le pronostic vital , aussi par l'amplification des répétitions lors de la transmission maternelle qui fait passé le tableau clinique d'une simple cataracte à une forme néonatale létale dans 41% des cas. Nous présentant cette étude une famille marocaines adressée par le service de Neurologie du CHU de Casablanca, dans un tableau clinique évoquant la maladie de Steinert. L'analyse génétique par PCR , TP-PCR et Southern-Blot a confirmé le diagnostic chez les malades et détecté les cas asymptomatiques dans la fratrie qui bénéficieront d'un contrôle régulier essentiellement cardiaque .

Les maladies par mutations dynamiques sont souvent de pronostic péjoratif s'ils ne sont pas pris en charge à temps, l'analyse génétique sert à la fois comme test diagnostique pour une prise en charge ciblée et préventif pour instaurer le contrôle des cas asymptomatiques mais porteur de la mutation.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P246 - ASPECTS GENETIQUE DES EPILEPSIES

A BEN ITTO (1), K Hamzi (2), S Nadifi (3)
1. pediatrie, faculté de médecine, CASABLANCA, Maroc
2. LGPM, faculté de médecine, CASABLANCA, Maroc
3. LGPM, Faculté de médecine, CASABLANCA, Maroc

Des progrès considérables ont été réalisés ces quinze dernières années dans le domaine de la génétique des épilepsies, tant dans les formes idiopathiques que symptomatiques. Il faut reconnaître qu'il n'y a pas encore de retombées de ces découvertes au plan thérapeutique. Pourtant, l'identification des gènes impliqués dans les formes familiales permet d'améliorer notre compréhension des mécanismes physiopathologiques de ces maladies et d'élaborer des modèles expérimentaux. Elle rend par ailleurs possible un diagnostic moléculaire direct, qui n'est pas sans soulever des problèmes éthiques et se heurte, dans bon nombre de cas, au problème des corrélations entre phénotype et génotype. Cet article passe en revue les connaissances actuelles sur les bases génétiques des épilepsies. En sont exclues les pathologies d'origine génétique dans lesquelles l'épilepsie n'est pas le symptôme essentiel.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P247 - CLINICAL, MOLECULAR AND FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF ARSACS.

I COUPRY (1), J LAVIE (1), E MAURAT (1), J PILLIOD (1), M ANHEIM (2), M BARTH (3), A GUICHET (4), B ARVEILER (1), D CAILLEY (5), C ROORYCK-THAMBO (1), J BOURON (6), R ROSSIGNOL (1), S FORLANI (7), A DURR (7), A BRICE (7), D LACOMBE (1), G STEVANIN (7), C GOIZET (8)

1. Laboratoire MRGM, Université Bordeaux, Bordeaux, France
2. (3) INSERM/UPMC UMR_S975, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Service de Génétique, CHU Angers, Angers, France
4. Service de Génétique, CHU Angers, Angers, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
6. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
7. INSERM/UPMC UMR_S975, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
8. Laboratoire MRGM, Université Bordeaux, Bordeaux, France

Autosomal recessive spastic ataxia of Charlevoix-Saguenay (ARSACS : MIM 270550) is a neurodegenerative disorder characterized by early-onset cerebellar ataxia with spasticity and peripheral neuropathy. This disorder was first described in the isolated Charlevoix-Saguenay region of Quebec, but nowadays, it is known to occur worldwide. This study presents the identification of ARSACS in patients recruited from the SPATAX network, and functional analyses on patients' fibroblasts.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P248 - LES THROMBOCYTOPENIES CAUSEES PAR LES MUTATIONS DE FILAMINE A PEUVENT S'EXPRIMER DE FAÇON ISOLEE

P Nurden (1), I Coupry (2), N Debili (3), M Bryckaert (4), P Fergelot (5), C Rooryck (2), D Cailley (5), B Arveiler (2), D Lacombe (2), A Nurden (1), C Goizet (2)

1. Centre de Référence des Pathologies Plaquettaires, Plateforme Technologique d'Innovation Biomédicale, Hôpital Xavier Arnozan CHU Bordeaux, Pessac, France
2. Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme (MRGM), EA4576, Université Bordeaux, Bordeaux, France
3. INSERM, Hématopoïèse Normale et Pathologiques U1009, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
4. INSERM U770, Université Paris-Sud, Le Kremlin Bicêtre, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France

Filaminopathies A caused by mutations in the X-linked FLNA gene are responsible for a wide spectrum of rare diseases including two main phenotypes, the X-linked dominant form of periventricular nodular heterotopia (FLNA-PNH), and the otopalatodigital syndrome spectrum disorders. In platelets, filamin A (FlnA) tethers the principal receptors assuring the platelet-vessel wall interaction, glycoprotein Iba and integrin aIIbb3, to the underlying cytoskeleton. Hemorrhage, coagulopathy, and thrombocytopenia are mentioned in several reports on patients with FLNA-PNH. Abnormal platelet morphology in two patients with FLNA-PNH prompted us to examine a third patient with similar platelet morphology previously diagnosed with ITP. Her enlarged platelets showed signs of FlnA degradation in Western blotting and a heterozygous missense mutation in FLNA was detected. An irregular distribution of filamin within the total platelet population was shown by confocal microscopy for all 3 patients. In vitro megakaryocyte cultures showed an abnormal differentiation including an irregular distribution of FlnA with a frayed aspect, the presence of enlarged a-granules and an abnormal fragmentation of the cytoplasm. Mutations in FLNA may represent an unrecognized cause of macrothrombocytopenia with an altered platelet production and a modified platelet-vessel wall interaction.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P249 - LES MUTATIONS DES GENES CODANT POUR LES PROTEINES DU TRANSPORT INTRAFLAGELLAIRE (IFT) MEMBRES DU COMPLEXE A SONT ASSOCIEES A LA NEPHRONOPHTISE

E FILHOL (1), I PERRAULT (2), M GAUTHE (3), F SILBERMANN (1), N PRINCE (1), A RAIA (1), H ARTS (4), C BREDRUP (5), C BOLE-FEYSOT (6), P NITSCHKE (7), J KAPLAN (8), T ATTIE-BITACH (9), C JEANPIERRE (1), V CORMIER-DAIRE (9), R SALOMON (10), JM ROZET (2), C ANTIGNAC (9), S SAUNIER (1)

1. Inserm U983, Université Paris Descartes, Hôpital Necker, Paris, France
2. Inserm U781, Université Paris Descartes, Hôpital Necker, Paris, France
3. Inserm U893, Université Paris Descartes, Hôpital Necker, Paris, France
4. Department of Human Genetics, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, Pays-bas
5. Department of Ophthalmology, Haukeland University Hospital, Bergen, Norvege
6. Plateforme Génomique de la Fondation Imagine, Hôpital Necker, Paris, France
7. Plateforme de bioinformatique de l'université Paris Descartes, Hôpital Necker, Paris, France
8. Inserm U781, Université Paris Descartes, APHP, Département de Génétique, Hôpital Necker, Paris, France
9. Inserm U781, Université Paris Descartes, AP-HP, Département de Génétique, Hôpital Necker, Paris, France
10. Inserm U983, Université Paris Descartes, AP-HP, Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Necker, Paris, France

La néphronophtise (NPH) est une néphropathie autosomique récessive caractérisée par une fibrose interstitielle massive et la formation de kystes cortico-medullaires et représente une cause génétique majeure d'insuffisance rénale chez l'enfant. Elle appartient au groupe des ciliopathies car les produits des gènes responsables (NPHP1-NPHP11) sont localisés au niveau du cil primaire et/ou participent à sa fonction. Le spectre phénotypique associé aux mutations des gènes NPHP est variable et des atteintes extrarénales telles qu'une dégénérescence rétinienne, un syndrome cérébelleux, une atteinte hépatique ou des anomalies osseuses sont fréquemment associés à la NPH. Des mutations dans plusieurs gènes codant pour des protéines du transport intraflagellaire (IFT) membres du complexe A et qui permettent le transport rétrograde le long du cil primaire, ont été associées à des ciliopathies osseuses (WDR35, IFT122, IFT43). Dans le cadre d'un projet collaboratif, nous avons récemment identifié dans une famille avec NPH isolée, des mutations homozygotes dans le gène TTC21B, codant pour la protéine IFT139, également membre du complexe A.

Afin, de déterminer l'implication des gènes codant pour les IFT-A dans la NPH, nous avons analysé plusieurs famille/patients au sein de notre cohorte avec NPH isolée ou associée à des anomalies osseuses (syndromes de Jeune et Sensenbrenner, épiphyses en cônes, polydactylie), au moyen d'approches combinant séquençage haut débit d'exome total ou d'exome ciliaire ciblant 1600 gènes ciliaires, séquençage de gènes candidats et analyses familiales de liaison.

Nous avons ainsi pu identifier des mutations hétérozygotes composites dans le gène WDR19 dans une famille avec NPH isolée et une famille avec un syndrome de Sensenbrenner. Le gène WDR19 code pour la protéine IFT144 du complexe A, pour lequel aucune mutation n'avait été décrite jusqu'à lors. Nous avons aussi retrouvé des mutations pathogènes du gène TTC21B dans 3 familles avec NPH isolée et situs inversus. Deux patients présentaient la mutation récurrente P209L à l'état homozygote. Nous avons également identifié des mutations hétérozygotes composites et/ou homozygotes dans le gène WDR35 codant pour l'IFT121 chez deux patients Sensenbrenner et chez un patient avec une forme précoce de NPH, associé à un retard mental et une atteinte hépatique. Enfin, des mutations hétérozygotes dans d'autres gènes codant pour des IFT du complexe A (IFT122, IFT140) ont été retrouvées chez 3 autres patients. Les mutations identifiées chez les patients avec NPH sont des mutations faux-sens ou en association avec une mutation non-sens, et par conséquent pourraient préserver partiellement le transport rétrograde.

Nos résultats suggèrent que les mutations des IFT membres du complexe A sont une cause importante de néphronophtise. Ils démontrent également que la NPH, les syndromes de Jeune et Sensenbrenner présentent des phénotypes chevauchants qui peuvent résulter d'un même défaut moléculaire.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P250 - UNE CAUSE RARE D'ANEMIE FŒTALE : L'ANEMIE DE BLACKFAN DIAMOND

RL Touraine (1), L Da Costa (2), M Ffrench (3), R Bouvier (4), F Prieur (1), G Chanoz Poulard (5)
1. Service de Génétique, CHU de Saint Etienne, Saint Etienne, France
2. Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
3. Laboratoire d'Hématologie, CHU Lyon Sud, Pierre-Benite, France
4. Centre de Pathologie Est, CHU de Lyon, Bron, France
5. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHG de Roanne, Roanne, France

Nous avons vu un couple en consultation pour avis suite à la mort in utero à 37 SA de leur premier enfant, de sexe féminin
En fin de grossesse, au dernier trimestre il avait été découvert à l'échographie fœtale, un RCIU modéré entre le 5ème et le 10ème percentile et surtout une accélération de la vitesse sur le doppler de l'artère cérébrale moyenne. Pour autant, aucun signe de décompensation cardiaque, pas d'anasarque, bonne vitalité. Le bilan montra l'absence d'infection fœtale, en particulier à parvovirue B19 et l'absence d'Ac irréguliers. Six jours plus tard, à 37 SA la mort fœtale est survenue et des examens ont été réalisés sur le fœtus, malheureusement sans NFP fœtale.
On notait quelques éléments morphologiques chez ce fœtus œdémateux et trapu : une ensellure nasale marquée, un petit nez avec une columelle courte et un philtrum large et une relative grande bouche à la lèvre supérieure fine.
L'examen foetopathologique a mis en évidence une anasarque modérée avec un œdème sous-cutané, une ascite et un épanchement pleural et péricardique. Aucune malformation n'a été retrouvée ainsi qu'aucun signe d'hématopoïèse hépatique, ni de maladie de surcharge, mais une hypoplasie thymique, une stéatose hépatique et une surcharge en fer. On a donc évoqué une anémie arégénérative, d'autant que l'examen de la moelle osseuse fœtale (côte) montrait une erythroblastopénie.
Nous avons évoqué, par argument de fréquence, la possibilité d'une anémie de Blackfan Diamond. Aucun signe biologique de cette anémie n'était présent chez un des deux parents.
L'étude moléculaire chez le fœtus a permis de découvrir une mutation du gène RPS19 confirmant le diagnostic d'anémie de Blackfan Diamond, absente chez les deux parents.
L'anémie de Blackfan Diamond est une cause très rare d'anémie fœtale qu'il faut savoir évoquer malgré l'absence de signe chez un des parents ou l'absence de malformations ou dysmorphies associées. Toutefois, l'hétérogénéité génétique et l'existence de plusieurs diagnostics différentiels d'anémie arégénérative, sont des sources de difficultés.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P251 - REEVALUATION DE LA STRATEGIE DU DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DU SYNDROME DE RUBINSTEIN-TAYBI : A PROPOS DE 14 NOUVELLES MUTATIONS DANS LE GENE EP300

P Fergelot (1), MA Delrue (2), J Deforges (3), D Simon (4), I Coupry (4), G Lancelot (3), C Rooryck-Thambo (3), D Cailley (3), B Arveiler (4), D Lacombe (3)

1. Sevice de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
2. Service de génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeux, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
4. laboratoire EA4576 MRGM, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

Le syndrome de Rubinstein-Taybi (RSTS ; OMIM 180849) est une anomalie du développement, autosomique dominante, qui survient dans 1 sur 125 000 naissances. Les principales caractéristiques du syndrome du RSTS sont une dysmorphie touchant la face et les extrémités et un retard mental s'accompagnant d'anomalies oculaires, de malformations cardio-vasculaires, osseuses, génito-urinaires et d'une susceptibilité à certains cancers. Le gène CREBBP situé en 16p13.3 a été le premier impliqué dans ce syndrome ; dans environ 10% des cas une délétion est retrouvée et dans 50% des cas il s'agit de mutation ponctuelle. Toutes apparaissent de novo à l'exception de très rares cas de mosaïcisme chez l'un des parents. Un second gène, EP300, a été retrouvé muté dans un faible pourcentage de cas (environ 3%), apparemment associé à un phénotype moins sévère. Ces deux gènes sont impliqués dans le remodelage de la chromatine et, en tant que co-activateurs transcriptionnels, interagissent avec plus de 400 facteurs protéiques. Le diagnostic moléculaire du RSTS est basé sur l'analyse du gène CREBBP, à l'aide des techniques de FISH, de dosage génique et de séquençage. L'étude du gène EP300 a été entreprise pour les cas ne montrant pas d'anomalie de CREBBP, quelle que soit la sévérité du phénotype

Une cohorte de 250 patients atteints de RSTS, dont les dossiers ont été revus par les cliniciens du centre de référence pour les anomalies génétiques du développement de Bordeaux (DL, MAD) a été étudiée. Pour chacun des 2 gènes l'analyse moléculaire a comporté une recherche de délétion et l'analyse des 31 exons par DHPLC ou HRM et séquençage. 170 patients portaient un remaniement ou un variant identifié comme pathogène dans l'un des 2 gènes. Parmi eux 13 patients présentaient une anomalie du gène EP300, associée à une dysmorphie évocatrice, mais sans déformation axiale du pouce. Depuis 2010, nous évaluons de manière prospective une stratégie alternative basée sur l'analyse du gène EP300 en première intention chez des patients présentant ce phénotype plus modéré. Sur huit patients, 6 ne portaient aucune anomalie d'EP300 ni de CREBBP, étudié dans un second temps, 1 était muté dans l'exon 31 d'EP300 et 1 patient était muté dans l'exon 31 de CREBBP.

Cette étude confirme l'implication de gène EP300 dans le syndrome de Rubinstein-Taybi, avec une fréquence de 5%. Les mutations sont associées à un phénotype plus ou moins sévère recoupant partiellement celui retrouvé en cas d'altération du gène CREBBP. L'analyse du gène EP300 peut être proposée en 1ère intention lorsqu'il n'existe pas d'anomalies des extrémités et en particulier des pouces. Nos résultats préliminaires montrent qu'il demeure cependant nécessaire de compléter l'analyse d'EP300 par celle de CREBBP, mais le rendement est évidemment plus faible qu'avec un tableau typique.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P252 - DES MUTATIONS FAUX-SENS DANS LE GENE KIF1A RESPONSABLES DE LA PARAPLEGIE SPASTIQUE RECESSIVE AUTOSOMIQUE SPG30 : PHENOTYPES DISTINCTS SELON LA NATURE DES MUTATIONS.

A Rastetter (1), S Klebe (1), A Lossos (2), K El-Hachimi (1), E Martin (1), A. Brice (1), G Stevanin (1),

1. INSERM, U975, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Hadassah-Hebrew University Medical Center, Hadassah-Hebrew University Medical Center, Jerusalem, Israel

Les paraplégies spastiques héréditaires sont un groupe cliniquement et génétiquement hétérogène de maladies neurodégénératives caractérisées par une spasticité progressive des membres inférieurs. La classification des formes autosomiques récessives est complexe car la plupart des loci cartographiés ont été identifiés dans seulement quelques familles et représentent un faible pourcentage de patients.

Nous avons utilisé le séquençage nouvelle génération pour étudier le locus SPG30 sur le chromosome 2q37.3 chez deux patients de la famille liée à cette région. Nous avons identifié une seule mutation homozygote, p.R350G, qui ségrége dans la famille et est absente de 970 chromosomes contrôles. Cette mutation affecte un acide aminé fortement conservé à la fin du domaine moteur de KIF1A. L'étude de liaison dans une famille d'origine palestinienne suivie du séquençage de KIF1A nous a permis d'identifier une seconde mutation, p.A255V. Chez les familles KIF1A répertoriées, y compris les cas récemment signalés avec neuropathie héréditaire sensitive et dysautonomique (HSAN), la comparaison des caractéristiques cliniques avec la nature des mutations montre une corrélation phénotype-génotype qui peut pourrait aider à comprendre les mécanismes impliqués dans la dégénérescence des motoneurones.

Des biopsies de nerf sural d'un patient SPG30, montrent une absence de marquage immuno-histochimique de la protéine KIF1A mais mettent en évidence la présence d'inclusions de polyglucosans révélés par la réaction de l'acide périodique-schiff (PAS).

Nous avons donc montré, dans deux familles, que des mutations faux-sens dans le gène KIF1A sont responsables de la forme SPG30 dans les HSP autosomiques récessives tandis que des mutations non-sens rendent compte de la neuropathie de type HSAN. La relation entre les dépots de polyglucosans et la pathologie pourraient refléter les anomalies de transports intracellulaire attendues dans ces pathologies.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P253 - AMELIORATION CLINIQUE D'UN CAS DE XANTHOMATOSE CEREBRO TENDINEUSE APRES 18 MOIS DE TRAITEMENT A L'AGE ADULTE PAR L'ACIDE CHENODESOXYCHOLIQUE

M Ducrocq (1), C Vianey-Saban (2), K Parisi (1), RL Touraine (1)
1. Service de Génétique, CHU de Saint Etienne, Saint Etienne, France
2. Laboratoire des Maladies Métaboliques, CHU de Lyon, Bron, France

La Xanthomatose Cérébro Tendineuse (OMIM 213700) est une affection à transmission autosomique récessive touchant le métabolisme du cholestérol et comportant une élévation du Cholestanol.
Malgré la présence de signes cliniques dès la période néonatale, le diagnostic est souvent tardif, comme ce fut le cas chez notre patient, à l'âge adulte. Les risques sont neurologiques avec le développement progressif d'une neuropathie, d'une ataxie et d'une dégradation cognitive, osseux avec une ostéoporose et cardiovasculaires avec une athéromatose précoce.
Notre patient présentait un ictère prolongé les premières semaines de vie, puis une cataracte congénitale finalement opérée à 16 ans. Une tendance diarrhéique existait depuis le plus jeune âge.
Ensuite sont apparus une déficience intellectuelle légère, et surtout à partir de 16-18 ans, un tremblement fin et des signes d'ataxie d'aggravation progressive. L'IRM cérébrale étant sans particularités.
Le traitement étiologique par l'acide chénodesoxycholique a débuté après l'établissement du diagnostic chez ce patient en Décembre 2009.
Nous avons pu observer l'efficacité de ce traitement après les 18 premiers mois :
- Normalisation du taux de cholestanol
- Réduction clinique du tremblement
- Amélioration des vitesses de conduction nerveuses
- Petite amélioration du QI, surtout sur les performances verbales, l'analyse visuelle et la vitesse de traitement de l'information passant de 63 à 72 pour le QIV, de 62 à 68 pour le QIP et de 61 à 67 pour le QIT (WAIS-III).

Le patient a pu passer son permis de conduire sur boîte automatique et son permis de cariste.
Ceci souligne l'intérêt du diagnostic de cette affection curable et la possibilité d'amélioration même lorsque le traitement est institué à l'âge adulte.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P254 - FROM DGGE TO NGS: (R)EVOLUTION OF GENETIC TESTING STRATEGY IN GEFS+/DRAVET SYNDROME PATIENTS.

HD Gabriel (1), M Gencik (2), A Lott (1)

1. Zentrum fuer Medizinische Genetik, Diagenos, Osnabrueck, Allemagne
2. Praxis für Humangenetik, Mol. Genetics Laboratory, Vienna, Autriche

SCN1A-related seizure disorders encompass a spectrum that ranges from generalized epilepsy with febrile seizures plus (GEFS+) to Dravet syndrome as the most severe phenotype.The phenotype can vary even within the same family. Most SCN1A-related seizures are the result of de novo mutations.

The SCN1A gene is coding for the alpha1-subunit of the neuronal voltage gated sodium channel. It is encoded by 26 exons on chromosome 2q24.

The molecular genetic diagnostic of epilepsies particularly in children is important for diagnosis, prognosis and therapy.

In 2007 we started a screening program for patients with suspected SCN1A-related disorders in a clinical setting.

Up to now more then 200 patients with a clinical phenotype suggestive for a SCN1A-related disorder were tested in our institute. In more then 40 patients unclassified variants/mutations in the SCN1A gene were identified.

Until 2009/2010 mutation screening was performed by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE), Sanger sequencing and MLPA for deletion/duplication testing.

In 2010 we established a new screening protocol using next-generation sequencing (NGS) on the Roche454J platform. Our new testing pipeline includes also mutation analysis of the „epilepsy genes“ SCN1B, GABRG2 and GABRD.

We could show that next-generation sequencing is powerful and feasible new tool to perform genetic testing even in a clinical setting. It allows testing of all disease-related genes in parallel and therefore a much faster turn-around-time to much lower costs without any compromise on specifity and sensitivity.

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P255 - MUTATIONS GERMINALES DU GENE GNAS CHEZ 309 PATIENTS CAS INDEX PRESENTANT UNE PSEUDOHYPOPARATHYROÏDIE DE TYPE 1A/1C (PHP1A/PHP1C) : CORRELATION GENOTYPE/PHENOTYPE

C PICARD (1), N COUDRAY (1), M DECAMP (1), G ABEGUILE (1), M GERARD (2), N GRUCHY (3), H MITTRE (1), JP BASUYAU (4), N RICHARD (1), ML KOTTLER (1)

1. Service de génétique, laboratoire de génétique moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire, Caen, France
2. Service de génétique, génétique clinique, Centre Hospitalier Universitaire, Caen, France
3. Service de génétique, laboratoire de cytogénétique prénatal, Centre Hospitalier Universitaire, Caen, France
4. Département Biologie clinique et Pharamacie, CRLCC, Rouen, France

Introduction : La pseudohypoparathyroïdie de type 1a/1c (OMIM 103580) est une maladie rare transmis sur le mode autosomique dominant qui comporte un syndrome clinique dysmorphique, l' Ostéodystrophie Héréditaire d'Albright (OHA). S'y associent des signes biologiques de résistance multihormonale en particulier à la PTH et à la TSH.

Objectif : Analyser les caractéristiques cliniques et biologiques des patients PHP1a/PHP1c en corrélation avec la sévérité de la mutation du gène GNAS.

Matériels et méthodes : Nous avons étudié 309 patients cas index présentant un phénotype de PHP1a/PHP1c familiale (25%) ou sporadique (75%). La séquence codante ainsi que les jonctions intron-exon du gène GNAS ont été étudiées par séquençage. L'étude a été complétée, dans les formes familiales sans mutation ponctuelle du gène GNAS, par la recherche de grands réarrangements par la technique de MS-MLPA.

Résultats : Une mutation germinale est identifiée dans 39% des cas (120/309) ; 57 (soit 80%) de mutations dans les formes familiales et 63 (soit 27%) dans les formes sporadiques. Lorsque cela a pu être déterminé (n=88), 36 mutations sont des variations de novo (41%) et 52 mutations sont des variations en provenance de l'allèle maternel (59%). Enfin, nous décrivons un mosaïcisme germinal dans une famille dont les deux enfants sont atteints de PHP1a sans anomalie des allèles maternels.

La plupart des mutations (n=52, 43%) entraînent un codon STOP prématurés (33 avec décalage du cadre de lecture et 19 non-sens) ; 18 (15%) impliquent les sites d'épissage ; 2 concernent le codon d'initiation ; 5 mutations sans décalage du cadre de lecture (insertion/délétion d'1 AA) ; 40 sont des variations faux-sens n'entraînant pas d'après les algorithmes de prédiction l'apparition de nouveau sites cryptiques d'épissage dans l'exon. Enfin, un réarrangement de grande taille (délétion complète du gène) a aussi été aussi mis en évidence par MS-MLPA.

Tous les exons du gène GNAS sont atteints excepté l'exon 3, avec en fréquence principalement l'exon 1 (20 fois), l'exon 7 (22 fois) et l'exon 5 (15 fois).

Corrélation génotype/phénotype : Lorsque l'on corrèle sévérité de la mutation (non sens, décalage du cadre de lecture, mutation codon d'initiation, site d'épissage, grande délétion) et présence de brachymétacarpie, retard mental et calcifications intracérébrales ou l'activité Gs alpha érythrocytaire, il n'y pas de différence significative entre les 2 groupes (sévère et non sévère). De manière très intéressante, lorsque cette variation est sévère, la présence d'ossifications est statistiquement beaucoup plus importante (p

POSTER

1. Maladies monogéniques, de la clinique au mécanisme

P256 - A NEW DELETION ABLATING NESP55 CAUSES LOSS OF MATERNAL IMPRINT OF A/B GNAS AND AUTOSOMAL DOMINANT PSEUDOHYPOPARATHYROIDISM TYPE IB

G ABEGUILE (1), N COUDRAY (1), N RICHARD (1), M LEBRUN (2), H MITTRE (1), M DECAMP (1), N GRUCHY (3), J ANDRIEUX (4), P CATHEBRAS (5), ML KOTTLER (1)

1. Service de génétique, laboratoire de génétique moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire, Caen, France
2. Service de génétique clinique, Centre Hospitalier Universitaire, Saint-Etienne, France
3. Service de génétique, laboratoire de cytogénétique prénatal, Centre Hospitalier Universitaire, Caen, France
4. Laboratoire de génétique médicale, Centre Hospitalier Universitaire, Lille, France
5. Médecine Interne, Centre Hospitalier Universitaire, Saint-Etienne, France

Background: Patients with PHP-1b develop resistance toward PTH leading to hypocalcemia and hyperphosphoremia. PHP-1b is an imprinted human disorder associated with methylation changes at one or several differentially methylated regions at the GNAS locus. This complex locus gives rise to several different transcripts with different patterns of imprinted expression depending on promoter methylation. They can be either coding (Gαs, XLαs and NESP55) or non-translated (exon A/B and AS). The maternal NESP55 transcript is the sense counterpart of the paternal AS.

Objective: Pinpoint the genetic defect in a new family with autosomal dominant PHP-1b.

Design: We used methylation analysis, comparative genomic hybridization and genotyping to characterize the defect. AS expression was studied in two patients and their unaffected mothers.

Results: A novel deletion of 18988 bp which removes NESP55 exon 1 and a large part of its counterpart GNAS AS intron 4 was discovered. On maternal transmission, this deletion causes loss of A/B imprint without affecting XL/AS DMR. On paternal transmission, there are no methylation anomalies. The deletion creates a “cryptic exon” contained within AS intron 4, which is expressed from the mutated allele, be it paternal or maternal.

Conclusion: This new deletion suggests that NESP55 is an additional imprinting control region which directs A/B methylation in humans. We bring arguments for a reciprocal inhibition between the expressions of NESP and AS. However, whether loss of methylation at A/B DMR is a consequence of the loss of NESP expression or of the expression of AS, requires further investigations.

Key terms: GNAS locus; NESP DMR; AD-PHP-1b; AS DMR; Antisens expression.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P257 - CORRELATION PHENOTYPE-GENOTYPE CHEZ 14 PATIENTS PORTEURS D'UNE DELETION DE LA REGION CHROMOSOMIQUE 1Q24Q25

V Haddad (1), A Aboura (2), J Andrieux (3), L Bernardini (4), C Bonnet (5), K Fagan (6), J McParland (7), L Roos (8), C Ruivenkamp (9), D Sanlaville (10)

1. Service de cytogénétique, Hôpital robert debré, Paris, France
2. Service de cytogénétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
3. Service de génétique médicale, CHU de Lille, Lille, France
4. Laboratorio di Citogenetica, Istituto CSS-Mendel, Rome, Italie
5. Laboratoire de Génétique Humaine, CHU de Nancy-Brabois, Nancy, France
6. Cytogenetics Laboratory, The John Hunter Hospital, Newcastle, Australie
7. Cytogenetics Department, Churchill Hospital, Oxford, Royaume-Uni
8. Center for Applied Human Molecular Genetics, KennedyCentret, Glostrup, Danemark
9. Laboratory for Diagnostic Genome Analysis, Leiden University Medical Center, Leiden, Pays-bas
10. Service de génétique clinique, CHU de Lyon, Lyon, France

Les patients porteurs d'une délétion de la région chromosomique 1q24q25 partagent de nombreux signes cliniques comme un retard de croissance, une microcéphalie, des mains et des pieds courts, une dysmorphie faciale et un retard mental.Nous rapportons quatorze patients avec une délétion de la région chromosomique 1q24q25, qui présentent un syndrome microdélétionne phénotypiquement reconnaissable: retard de croissance pré et post natal, microcéphalie, mains et pieds courts avec brachydactylie et clinodactylie du 5ème doigt, un pli palmaire transverse unique, une dysmorphie faciale caractéristique (hypertélorisme, oreilles petites et basses implantées, nez petit avec une voûte du nez large et une pointe bulbeuse et micrognatie).Les radiographies osseuses montrent un retard d'âge osseux. Parfois, quelques signes peuvent être associés comme des fentes labiales et/ou palatines, des anomalies génitales, cardiaques et rénales.Ces délétions ont été caractérisées par CGH-array, ce qui nous a permis de définir une région critique de 717kb en 1q25.1 (chr1 :173,710,633-174,427,602, hg19), contenant sept gènes incluant CENPL.CENPL code pour la protéine centromérique L qui est indispensable pour la fonction centromérique et la progression de la mitose. Le retard de croissance présent dans ce syndrome est similaire à celui décrit dans d'autres syndromes associant un retard de croissance avec microcéphalie, comme le nanisme ostéodystrophique avec microcéphalie de type II (MOPD2) et le syndrome de Seckel, qui sont dus à des mutations induisant la perte de fonction de protéines centrosomales.CENPL est donc le gène qui pourrait être responsable de la microcéphalie et du retard de croissance dans le syndrome microdélétionnel 1q24q25.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P258 - SYNDROME DE WOLF HIRSCHHORN AVEC DUPLICATION ADJACENT DETECTEE PAR CGH A PROPOS D UN CAS.

B Ait abdelkader (1), D Sanlaville (2), A Boughalem (3), A chouakri (4), A Saadi (5), A Chikouche (6), K Amirat (7), A Labalme (2), m Ait abdellah (8), O Fadel (9), K Amarouche (9), T Sidi Said (10), L Griene (1), Y Oukaci (11)

1. laboratoire de biochimie et Génétique Moléculaire, universite, université, Alger, Algérie
2. cytogenetique, hopital de lyon, Lyon, France
3. laboratoire de biochimie, CPMC, Alger, Algérie
4. Llaboratoire de biochimie, CPMC, Alger, Algérie
5. Neurologie, Ben Aknoun, Alger, Algérie
6. laboratoire de biochimie et Génétique Moléculaire, universite, université, alger, Algérie
7. cpmc, laboratoire de biochimie et Génétique Moléculaire, universite, université, Alger, Algérie
8. laboratoire de biochimie et Génétique Moléculaire, universite, université, Ager, Algérie
9. Laboratoire de biochimie, CPMC, Alger, Algérie
10. laboratoire de biochimie et Génétique Moléculaire, universite, université, CPMC, Alger, Algérie
11. laboratoire de biochimie et Génétique Moléculaire, universite, ALGER, Algérie

le syndrome de Wolf Hirschhorn (WHS) est une anomalie chromosomique initialement décrite par Cooper et Hirschhorn en 1961.il est lie a une délétion 4p de taille variable ,générée par différents .mécanismes chromosomiques .ce syndrome se manifeste habituellement cliniquement par un retard de croissance ,un retard mental, des pieds bots, un aspect facial en (casque de guerrier grec)associant une microcéphalie, un hypertélorisme, des mal formations auriculaires et une fente labiale .son incidence est de 1/50 000.

Nous rapportons un cas un enfant de 11 ans présentant un retard mental sévère avec dysmorphie caractéristique du syndrome de WHS, diagnostiqué dans le service, par le caryotype confirmé par la FISH .L'utilisation de l a CGH a retrouvé en plus de la délétion 4p16.3p16.1 (9.5 Mb),une duplication de 2.5Mb. Juste après la délétion. L'utilisation de la QPCR a confirmé cette duplication par le ratio supérieur a 1.2 de la région étudiée (gène d'intérêt : CNLK exon 18).

Les caryotypes des parents sont sans particularités

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P259 - SYNDROME DE MC DERMIDE PHELAN A PROPOS D UN CAS

B Ait abdelkader (1), A Labalme (2), A Boughalem (3), K Amirat (4), A chouakri (5), A Chikouche (6), A Saadi (7), m Ait abdellah (8), O Fadel (9), K Amarouche (9), T Sidi Said (10), D Sanlaville (2), L Griene (1), Y Oukaci (11)

1. laboratoire de biochimie et Génétique Moléculaire, universite, université, Alger, Algérie
2. cytogenetique, hopital de lyon, Lyon, France
3. laboratoire de biochimie, CPMC, Alger, Algérie
4. cpmc, laboratoire de biochimie et Génétique Moléculaire, universite, université, Alger, Algérie
5. Llaboratoire de biochimie, CPMC, Alger, Algérie
6. laboratoire de biochimie et Génétique Moléculaire, universite, université, alger, Algérie
7. Neurologie, Ben Aknoun, Alger, Algérie
8. laboratoire de biochimie et Génétique Moléculaire, universite, université, Ager, Algérie
9. Laboratoire de biochimie, CPMC, Alger, Algérie
10. laboratoire de biochimie et Génétique Moléculaire, universite, université, CPMC, Alger, Algérie
11. laboratoire de biochimie et Génétique Moléculaire, universite, ALGER, Algérie

Le syndrome de Mc dermid phelan est une microdeletion atteignant le locus q13.3 du chromosome 22. Cette délétion atteint le gène SHANK3 responsable des déficits neurologiques de ce syndrome. La taille de la délétion va de 100.000 paires de base à 9.000.000 de paires de base. Il semble exister une faible corrélation entre la taille de la délétion et les signes cliniques. Incidence et prévalence inconnue en raison du caractère récent de ce syndrome dont l'étiologie a été mise récemment en évidence par les techniques génétiques avancées.

Nous rapportons un cas diagnostique dans le service, c est une fille de 08ans au comportement autistique, avec Un visage présentant des signes mineurs, comme un allongement du crâne par rapport à la largeur, un front haut, un ptosis, de longs cils, une nez aplati avec une base large, un nez bulbeux, de grandes oreilles. Outre ces signes, les enfants peuvent présenter de grandes mains avec clinodactylie du 5 Emme doigt de la main droite, des ongles de pied dysplasiques, une absence de transpiration et une fossette sacrée. Ils sont relativement insensibles à la douleur, ont des mouvements masticatoires incessants, associés au bruxisme nocturne. L'ensemble de ces signes font parler d'attitude autistique chez ces enfants.

Le caryotype standard a mis en évidence la délétion de la région 22q, L'hybridation in situ fluorescente du locus 13.3 situé sur le chromosome 22a confirme la microdeletion utilisation de la CGH nous a permis d avoir les limites et la taille exactes de la délétion ainsi de faire une corrélation génotype phénotype.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P260 - LE SYNDROME DE MC DERMID PHELAN EST UNE MICRODELETION

tes Auteur Test (1)
1. mco, mco, marseille, France

http://fr.wikipedia.org/wiki/D%C3%A9l%C3%A9tion atteignant le locus q13.3 du chromosome 22. Cette délétion atteint le gène SHANK3 responsable des déficits neurologiques de ce syndrome. La taille de la délétion va de 100.000 paires de base à 9.000.000 de paires de base. Il semble exister une faible corrélation entre la taille de la délétion et les signes cliniques. Incidence et prévalence inconnue en raison du caractère récent de ce syndrome dont l'étiologie a été mise récemment en évidence par les techniques génétiques avancées.
Nous rapportons un cas diagnostique dans le service, c est une fille de 08ans au comportement autistique, avec Un visage présentant des signes mineurs, comme un allongement du crâne par rapport à la largeur, un front haut, un ptosis, de longs cils, une nez aplati avec une base large, un nez bulbeux, de grandes oreilles. Outre ces signes, les enfants peuvent présenter de grandes mains avec clinodactylie du 5 Emme doigt de la main droite, des ongles de pied dysplasiques, une absence de transpiration et une fossette sacrée. Ils sont relativement insensibles à la douleur, ont des mouvements masticatoires incessants, associés au bruxisme nocturne. L'ensemble de ces signes font parler d'attitude autistique chez ces enfants.
Le caryotype standard a mis en évidence la délétion de la région 22q, L'hybridation in situ fluorescente du locus 13.3 situé sur le chromosome 22a confirme la microdeletion utilisation de la CGH nous a permis d avoir les limites et la taille exactes de la délétion ainsi de faire une corrélation génotype phénotype.http://fr.wikipedia.org/wiki/D%C3%A9l%C3%A9tion atteignant le locus q13.3 du chromosome 22. Cette délétion atteint le gène SHANK3 responsable des déficits neurologiques de ce syndrome. La taille de la délétion va de 100.000 paires de base à 9.000.000 de paires de base. Il semble exister une faible corrélation entre la taille de la délétion et les signes cliniques. Incidence et prévalence inconnue en raison du caractère récent de ce syndrome dont l'étiologie a été mise récemment en évidence par les techniques génétiques avancées.
Nous rapportons un cas diagnostique dans le service, c est une fille de 08ans au comportement autistique, avec Un visage présentant des signes mineurs, comme un allongement du crâne par rapport à la largeur, un front haut, un ptosis, de longs cils, une nez aplati avec une base large, un nez bulbeux, de grandes oreilles. Outre ces signes, les enfants peuvent présenter de grandes mains avec clinodactylie du 5 Emme doigt de la main droite, des ongles de pied dysplasiques, une absence de transpiration et une fossette sacrée. Ils sont relativement insensibles à la douleur, ont des mouvements masticatoires incessants, associés au bruxisme

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P261 - IDENTIFICATION D'UN POINT CHAUD DE RECOMBINAISON HOMOLOGUE NON ALLELIQUE CENTRE SUR UNE SEQUENCE ALUSQ AU LOCUS DPY19L2.

C Coutton (1), F Abada (2), R Harbuz (1), R Zouari (3), G Merdassi (4), F Vialard (5), C Triki (6), S Hennebicq (1), PS Jouk (1), v Satre (1), c Arnoult (7), J Lunardi (2), PF Ray (2)

1. Departement de Génétique et Procréation, CHU de GRENOBLE, GRENOBLE, France
2. UM de Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU de GRENOBLE, GRENOBLE, France
3. Clinique de la Reproduction les Jasmins, 23, Av. Louis BRAILLE, TUNIS, Tunisie
4. Unité de Procréation Médicalement Assistée, Hôpital Aziza Othmana, TUNIS, Tunisie
5. Département de Biologie de la Reproduction, Centre Hospitalier Poissy Saint Germain, POISSY, France
6. CMRDP, 5, rue Ibn Hazem, TUNIS, Tunisie
7. Equipe "Génétique, Infertilité et Thérapeutique", Laboratoire AGIM, CNRS FRE3405, Université Joseph Fourier, GRENOBLE, France

La globozoospermie est un phénotype d'infertilité masculine caractérisé par la présence dans l'éjaculat d'une majorité de spermatozoïdes ronds, dépourvus d'acrosome. Nous avons montré précédemment qu'une large majorité des patients globozoocéphales a une délétion homozygote de 200 kb emportant la totalité du gène DPY19L2, fortement exprimé au niveau testiculaire et que cette délétion se produit par recombinaison homologue non allélique (NAHR) entre deux régions répétées (LCR (Low Copy Number)) de 28 kb localisées de part et d'autre du gène (1).

Nous avons mis au point une analyse MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) permettant de quantifier le nombre d'allèles DPY19L2. Nos études ont également permis de restreindre la zone de recombinaison à 1 kb et de développer deux PCR permettant d'amplifier de manière spécifique les allèles délétés et dupliqués. Les allèles recombinés identifiés ont été séquencés afin de mieux caractériser les points de cassures et de distinguer les allèles identiques (effet fondateur) des allèles issus d'événements mutationnels distincts.

Nous avons analysé 14 patients globozoospermiques présentant une délétion homozygote de DPY19L2, deux présentant une délétion hétérozygote et 450 sujets contrôles. Un allèle délété et trois allèles dupliqués ont été identifiés parmi les 450 contrôles. Au niveau de cette petite cohorte témoin on retrouve donc plus d'allèles dupliqués que délétés. Ce résultat est concordant avec les résultats présentés sur la base DGV (database of genomic variants) pour ce locus. Ces observations sont surprenantes car le modèle théorique des NAHR prévoit la production d'un excès de délétions, ou, en l'absence de recombinaisons intrachromatidiennes, de la production d'un nombre égal d'allèles délétés et dupliqués.

Nous avons séquencé un total de 31 allèles délétés et 3 allèles dupliqués. Cette analyse a permis d'identifier 3 trois points de cassures différents et 11 haplotypes distincts. Un des haplotypes dupliqués correspond à l'allèle réciproque de l'un des haplotypes récurrents, identifié au niveau de 6 allèles délétés. La comparaison de ces deux allèles recombinés permet de visualiser a posteriori l'échange allélique survenu au cours de la NAHR.

Cette étude a permis de démontrer qu'au moins 11 évènements mutationnels distincts se sont produits dans une région inférieure à 1 kb située au sein d'une région dupliquée de 28 kb mettant ainsi en évidence un point chaud de recombinaison centré sur cette région. Cette région minimale de recombinaison est elle-même centrée sur une séquence répétée de type AluSq de 200 bp. On peut donc penser que cette séquence, qui peut correspondre à un site de fragilité de l'ADN au sein du LCR, favorise la survenue préférentielle de la NAHR

1) Harbuz, R. et al. (2011) A Recurrent Deletion of DPY19L2 Causes Infertility in Man by Blocking Sperm Head Elongation and Acrosome Formation. Am J Hum Genet 88, 351-61.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P262 - DELETION XP22.2P22.33 HOMOGENE CHEZ UN FOETUS DE SEXE FEMININ : DIFFICULTES DU CONSEIL GENETIQUE EN PERIODE PRENATALE

V KREMER (1), F GIRARD (1), H DOLLFUS (2), M COSSEE (3), C LAGIER-TOURENNE (3), N CALMELS-CARELLE (1), E JEANDIDIER (4), B DEBUS (5), R PFUNDT (6), E FLORI (1)

1. Service de Cytogénétique, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
2. Service de Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
3. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Faculté de Médecine, Strasbourg, France
4. Service de Génétique, Hôpital E. Muller, Mulhouse, France
5. Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital du Hasenrain, Mulhouse, France
6. Département de Génétique Humaine, Hôpital Radboud, Nijmegen, Pays-bas

Les délétions distales du bras court du chromosome X en Xp22.2p22.33 ont été rapportées en association avec différentes pathologies liées à l'X. Les femmes qui en sont porteuses peuvent manifester ces affections, soit en raison d'un profil d'inactivation de l'X défavorable, soit du fait de l'haploinsuffisance, associée à une hétérogénéité individuelle, de gènes situés dans cette région et échappant à l'inactivation.

Nous rapportons l'observation d'une fillette âgée de 6 ans, chez laquelle une amniocentèse réalisée chez sa mère en raison d'une perturbation des marqueurs sériques, met en évidence une délétion terminale du bras court d'un chromosome X. L'étude en BrdU du profil d'inactivation de l'X montre que l'X délété est toujours inactif et qu'il existe un biais total d'inactivation de l'X en biologie moléculaire. Les caryotypes parentaux sont normaux et l'X délété est d'origine paternelle. Curieusement, chez la mère, un biais total d'inactivation de l'X est mis en évidence: un microremaniement déséquilibré des chromosomes X maternels est exclu par une CGH array de type BAC; comme il est impossible de préciser si l'X actif du fœtus correspond à l'X actif ou à l'X inactif de sa mère du fait des recombinaisons méiotiques, une pathologie liée à l'X ne peut être exclue chez le fœtus. En l'absence de biais d'inactivation de l'X chez d'autres femmes de la famille, un biais d'inactivation de l'X dû au hasard (7 % de la population générale) ainsi qu'une néomutation sur l'X maternel inactif sont envisagés. Compte-tenu de la normalité de l'échographie fœtale, un conseil génétique raisonnablement rassurant (petite taille possible liée à l'haploinsuffisance de SHOX), mais néanmoins prudent (pas d'exclusion formelle d'une pathologie liée à l'X) est donné au couple.

A la naissance de l'enfant, le diagnostic de syndrome Microphtalmia with Linear Skin defects (MLS) est porté sur l'association d'une microphtalmie avec sclérocornée totale et d'anomalies cutanées linéaires du visage et du cou. Une SNP array permet de déterminer la taille de la délétion (12,725 Mb) et sa localisation en Xp22.2p22.33 et d'exclure un microremaniement déséquilibré. Aucune mutation n'est identifiée dans les exons 2 à 7 et les sites d'épissage du gène HCCS impliqué dans le syndrome MLS. Plusieurs hypothèses sont proposées pour expliquer le syndrome MLS observé chez l'enfant.

Cette observation montre les difficultés du conseil génétique dans les délétions homogènes de la région Xp22.2p22.33 de découverte anténatale chez un fœtus de sexe féminin. Le conseil génétique doit reposer avant tout sur la taille et la localisation exacte, de préférence par CGH array, de l'anomalie, son caractère de novo ou hérité et sur les signes échographiques associés. Si l'anomalie est survenue de novo et qu'il n'y a pas de signes d'appel échographiques, une étude de l'inactivation de l'X chez la mère est inutile car elle ne permet pas, à elle seule, d'apporter des indications pronostiques précises.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P263 - ETUDE PAR CYTOGENETIQUE MOLECULAIRE D'UNE PATIENTE AVEC UNE LEUCOENCEPHALOPATHIE MEGALENCEPHALIQUE AVEC KYSTES SOUS CORTICAUX.

i ben abdallah bouhjar (1), h ben khelifa (2), m gribaa (3), h hannachi (4), d hmida (3), s mougou (3), a saad (3)

1. laboratoire de cytogénétique, de génétique moléculaire et de biologie de la reproduction humaine, chu farhet hached, sousse, Tunisie
2. Service de cytogénétique et de biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached, Avenue Ibn Eljazzar, 4000, Sousse, Tunisie., chu farhat hached, sousse, Tunisie
3. Service de cytogénétique et de biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached, Avenue Ibn Eljazzar, 4000, Sousse, Tunisie, chu farhat hached, sousse, Tunisie
4. Service de cytogénétique et de biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached, sousse, Tunisie

La leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous corticaux (LMC) ou maladie de Van der Knaap est une maladie rare qui associe une macrocéphalie, une épilepsie, un syndrome cérébelleux statique d'évolution lente et progressive, une atteinte diffuse de la substance blanche avec présence de kystes sous corticaux temporaux et frontaux à l'IRM caractéristique de la maladie. Nous rapportons, à travers notre observation les données cliniques, génétiques et radiologiques de cette affection. Il s'agit d'une fille de 3 ans et ½ adressé pour retard psychomoteur. À l'âge de 2 ans, les parents commencent à constater une instabilité à la marche avec des chutes fréquentes d'aggravation progressive et sans facteur déclenchant, notamment infectieux. A l'examen l'enfant a un Poids de 14 kg (M), une taille de 87 cm (-1 DS) et un périmètre crânien de 54 cm (+3DS) avec une macrocranie. Un bilan biologique a été effectué. Le caryotype standard révèle la présence d'une formule chromosomique normale, l'hybridation in situ fluorescente par la sonde NSD1 du locus 5q35 été normale. Nous avons étudié le cas présenté par CGH-array en utilisant des puces Agilent haute résolution (44000 oligonucléotides). Les résultats obtenus montrent une perte de matériel génomique d'environ 267 Kb du chromosome 22 dans la région 22q13 entre les oligonucléotides en position 16 329 960 et 16 597 410. Sur les 267 Kb d'ADN délétés du 22, nous avons trouvé un gène impliqué dans le développement cérébrale c'est le gène MLC1 codant pour une protéine fortement exprimée dans le cerveau, mais dont le rôle exact est inconnu et plus de 50 mutations du gène MLC1 ont été rapportées. La leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux est une entité récente. Le diagnostic repose sur l'association de signes cliniques et radiologiques caractéristiques. La mise en évidence d'une délétion du gène MLC1 vient confirmer le diagnostic et rend possible un diagnostic anténatal. Il n'existe pas de traitement curatif et l'évolution se fait progressivement et inéluctablement vers une dégradation des fonctions motrices et mentales.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P264 - CARACTERISATION D'UN DER(8)T(8;16)(P23.2;Q23.1)PAT CHEZ UN PATIENT PRESENTANT DES CARACTERISTIQUES PHENOTYPIQUES DU SYNDROME DE KABUKI.

H Karmous - Benailly (1), M Dayem-Quere (1), C Massol (1), L Crouzet-Ozenda (1), C Fossoud (2), JC Lambert (1), V Paquis (1), F Giuliano (1)

1. Génétique, Archet 2, nice, France
2. pédiatrie, GCS Lenval-CHU, nice, France

Le patient a été adressé à la consultation de génétique pour la 1ère fois à l'âge de 21 mois dans le cadre d'un bilan de syndrome polymalformatif avec retard des acquisitions. L'enfant est né à terme eutrophe et la croissance est dans la norme. Son tableau clinique initial comprenait une dysmorphie faciale, une cyphose lombaire avec anomalie du corps de L1, une dilatation pyélocalicielle droite, des otites à répétition, des anomalies des extrémités, une hypotonie.

Le caryotype, alors réalisé, n'a retrouvé aucune anomalie. Rapidement, la dysmorphie s'est affirmée qui, associée à d'autres éléments du tableau, nous a permis d'évoquer le syndrome de Kabuki. Lors de la dernière consultation, ce patient avait 12 ans et demi, et avec la mise en place de la CGH-array, un diagnostic pouvant expliquer son phénotype a enfin pu être établi. Ce patient est, en fait, porteur d'un der(8)t(8;16)(p23.2;q23.1)pat, responsable d'une monosomie partielle de la région chromosomique 8p23.2pter d'environ 3.8 Mb et une trisomie partielle de la région chromosomique 16q23.1qter, d'environ 13 Mb. Le syndrome de Kabuki est un syndrome associant un déficit cognitif et des anomalies congénitales multiples avec 5 signes cardinaux 1) une dysmorphie caractéristique, 2) des anomalies des dermatoglyphes, 3) des anomalies squelettiques, 4) un retard de croissance postnatal et 5) un déficit cognitif léger à modéré. Plusieurs anomalies chromosomiques ont été rapportées chez des patients présentant ce syndrome, et notamment des duplications de la région 8p22p23.1 avaient été signalées par certains auteurs mais rapidement réfutées par de nombreux autres. Récemment, des mutations du gène MLL2, ont été rapportées comme étant une cause majeure du syndrome de Kabuki. La monosomie 8p distale (8p23.18pter) est classiquement associée à un phénotype reconnaissable incluant anomalies cardiaques, dysmorphie, déficit cognitif, troubles neuropsychiatriques, mais variable en fonction de la taille et la localisation de la région délétée. La seule caractéristique phénotypique retrouvée chez notre patient est le déficit cognitif qui est chez lui plus sévère que ce qui est généralement décrit.

Les trisomies 16q partielles sont rarement observées. Dans la majorité des cas, la partie distale 16q dupliquée est le résultat d'une translocation déséquilibrée. Ainsi, le phénotype, dans ces duplications 16q est difficile à établir en raison des délétions associées variables.

Nous discuterons de la corrélation entre le remaniement chromosomique observé et le phénotype du patient ainsi que de l'implication des gènes contenus dans ce remaniement génomique sur le phénotype du patient.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P265 - LA MICRODELETION 12P13.33 COMPRENANT LE GENE ELKS/ERC1 EST UN LOCUS ASSOCIE AU RETARD DE LANGAGE AVEC APRAXIE VERBALE, AVEC OU SANS DEFICIENCE INTELLECTUELLE.

J Thevenon (1), P Callier (2), J Andrieux (3), B Delobel (4), A Toutain (5), A David (6), L Gaunt (7), S Farrell (8), D Minot (1), S Sukno (9), C Le Caignec (10), D Sanlaville (11), M Bonnet (12), N Marle (13), F Levy (14), AL Mosca-Boidron (13), A Masurel-Paulet (15), F Mugneret (16), J Clayton-Smith (7), C Thauvin-Robinet (17), L Faivre (18)

1. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France
2. Cytogénétique, CHU Dijon, Dijon, France
3. Cytogénétique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, Lille, France
4. Centre de Cytogénétique Chromosomique, Hôpital Saint Vincent de Paul, Groupe Hospitalier de l'Institut Catholique Lillois, Lille, France
5. Service de Génétique, Hôpital Bretonneau, Tours, France
6. Service de Génétique Médicale, CHU, Nantes, CHU, Nantes, Nantes, France
7. Genetic Medicine, Manchester Academic Health Science Centre, University of Manchester, Manchester Biomedical Research Centre, St Mary's Hospital, Manchester, Royaume-Uni
8. Genetic Medicine, Credit Valley Hospital, Mississauga, Canada
9. Neuropédiatrie, Hôpital Saint-Vincent de Paul, Groupe Hospitalier de l'Institut Catholique Lillois, Lille, France
10. NSERM, UMR_S915, institut du thorax, Nantes, France
11. Laboratoire de Cytogénétique, CBPE, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
12. Centre de Référence des Troubles du Langage et des Apprentissages, CHU de Dijon, Dijon, France
13. Cytogénétique, CHU Dijon, Dijon, France
14. Centre de Référence des Troubles du Langage et des Apprentissages, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France
15. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, France
16. Cytogénétique, CHU de Dijon, Dijon, France
17. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, CHU de Dijon, Dijon, France
18. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», , Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, dijon, France

Les troubles du langage sont un groupe hétérogène de pathologies où des cas sporadiques comme familiaux ont été décrit. Les étiologies génétiques monogéniques rapportées n'expliquent qu'une faible proportion de cas, toujours identifiés chez des patients présentant une apraxie verbale et intéressant les gènes FOXP1, 2 et CNTNAP2. Leur identification à été réalisée dans un sous groupe de patients présentant une apraxie verbale, associée ou non à une déficience intellectuelle, des troubles de la lignée autistique. Les délétions subtélomériques 12p13.33 de moins de 5Mb sont parmi les plus rares. Les patients diagnostiqués par cytogénétique conventionnelle ne présentaient pas de syndrome polymalformatif mais constamment un retard d'acquisition. Seuls 4 patients étaient cliniquement décrits avec une telle délétion diagnostiquée en FISH-subtélomérique ou CGH-array, et étaient décrit avec un phénotype non spécifique de déficience intellectuelle.

Pour décrire les manifestations cliniques associées à ce syndrome microdélétionnel rare, une collaboration française avec le réseau national des plateformes de CGH-array avec la base de donnée européenne Decipher nous a permis de réunir 9 nouveaux cas avec une microdélétion 12p13.33 subtélomérique ou interstitielle de moins de 5Mb diagnostiquée en CGH-array ou FISH subtélomérique. Deux délétions étaient héritées de parents apparemment sains, dont les évaluations ciblées ont identifié des troubles similaires à ceux de leurs enfants. Un retard de langage était identifié chez tous les patients, associé à une prononciation anormale chez 7/9 des patients. Lorsqu'une évaluation orthophonique orientée a pu être réalisée, une apraxie verbale était mise en évidence. Une déficience intellectuelle était retrouvée chez seulement 5/9 patients, souvent associée à des troubles psychiatriques de sévérité variable. Les patients ne présentaient pas de dysmorphie faciale spécifique ni de malformation d'organe. Les tableaux cliniques des parents porteurs étaient également en faveur d'une expressivité variable.

La plus petite région chevauchante contient le gène ELKS/ERC1. Ce gène code pour une protéine synaptique ayant un rôle d'ancrage et d'exocytose des vésicules synaptiques au niveau de la zone active présynaptique. La protéine est retrouvée exprimée au niveau du système nerveux central, de la jonction neuromusculaire et dans différents types cellulaires. De manière intéressante, les hypothèses fonctionnelles de l'apraxie verbale liée aux anomalies de FOXP2 suggèrent des anomalies du contrôle fin des muscles vocalisateurs.
En conclusion, la délétion 12p13.33 peut être associée à des phénotypes variables, allant du retard de langage avec apraxie verbale à une déficience intellectuelle associée ou non à des troubles psychiatriques. En accord avec les données de la littérature, l'existence d'une apraxie verbale serait un bon indicateur pour justifier d'investigations génétiques en présence d'un retard de langage, isolé ou non.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P266 - INTERET DE LA REGION 20Q13.33 DANS LA SUSCEPTIBILITE AUX TROUBLES DU SPECTRE AUTISTIQUE

AL Mosca-Boidron (1), M Valduga (2), C Thauvin (3), N Lagarde (4), C Henry (5), M Béri-Deixheimer (2), N Marle (1), C Ragon (1), L Gueneau (6), P Callier (1), F Mugneret (1), P Jonveaux (2), L Faivre (7)

1. Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Dijon, Dijon, France
2. Laboratoire de Génétique, EA 4002, CHU, Nancy-Université, Nancy, France
3. Centre de Génétique et centre de référence maladies rares anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU Dijon, Dijon, France
4. Centre de Ressources Autismes de Bourgogne, CHU Dijon, Dijon, France
5. Centre de Ressources Autismes de Bourgogne, CHU de Dijon, Dijon, France
6. Equipe émergente Génétique et Anomalies du développement, IFR 100 Santé STIC, Université de Bourgogne, Faculté de Médecine, Dijon, France
7. Centre de Génétique et centre de référence maladies rares anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU de Dijon, Dijon, France

Les troubles du spectre autistique (TSA), dont fait partie l'autisme infantile, sont définis comme un groupe hétérogène de troubles qui se caractérisent par des altérations qualitatives des interactions sociales réciproques et des modalités de communication et de langage, ainsi que par un répertoire d'intérêts et d'activités restreint, stéréotypé et répétitif. Depuis une dizaine d'années, un intérêt particulier a été porté à l'identification de gènes de vulnérabilité à l'autisme. Les gènes identifiés à ce jour semblent être le plus souvent impliqués dans la formation et la maturation des synapses (ex les neuroligines) ainsi que dans la balance excitation/inhibition cellulaire (ex les récépteurs GABA). Nous rapportons un second cas de microdélétion 20q13.33 de novo chez un garçon présentant un autisme infantile. L'évaluation métabolique et le caryotype standard étaient normaux, ainsi que l'analyse moléculaire du gène FMR1. Une CGH-array 180K d'Agilent ® a permis de mettre en évidence une délétion interstitielle d'au moins 556 kb dans la région 20q13.33 (arr20q13.33(61,229,038-61,785,825)x1, hg18). Cette délétion comporte plusieurs gènes dont CHRNA4 et KCNQ2 qui sont de bons gènes candidats pour l'autisme. En effet CHRNA4 est associé à l'épilepsie frontale nocturne familiale autosomique dominante et KCNQ2 est associé aux convulsions néonatales bénignes familiales (CNBF). L'association fréquente entre l'épilepsie et l'autisme suggère que ces maladies partagent certains gènes de prédisposition. Les délétions subtélomériques 20q13.33 sont rares et les caractéristiques communes à ces patients sont notamment des troubles cognitifs et un retard de langage alors que les caractéristiques dysmorphiques sont non spécifiques ou absentes, et l'épilepsie inconstante. D'après la littérature, un cas de délétion et un cas de duplication de cette région associés à l'autisme ont déjà été rapportés. Ce troisième cas suggère que les variations du nombre de copie de la région 20q13.33, impliquant les gènes CHRNA4 et KCNQ2, peuvent prédisposer à des TSA. Ces résultats, s'ils sont répliqués, ouvrent de nouvelles pistes d'études de ces gènes dans l'autisme. Ce rapport souligne également l'importance de la CGH-array dans la recherche diagnostique des patients atteints de TSA.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P267 - UN CAS DE DELETION 22Q11 ASSOCIE A UNE POLYMICROGYRIE

Y CAPRI (1), M GERARD (2), S PASSEMARD (3), L PERRIN (3), A VERLOES (3)
1. Génétique Clinique, Hôpital robert Debré, Paris, France
2. Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, paris, France
3. Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France

Nous rapportons le cas d'un enfant premier d'une fratrie de trois issu de parents non consanguins sans antécédent. La grossesse était normale. L'enfant est né à 37+5SA avec un poids de naissance à 2560g (10p), une taille à 46cm (5-10p) et un périmètre crânien (PC) à 32.5cm (10-50p). Les parents décrivent des difficultés alimentaires modérées sans recours à une nutrition entérale et une relative hypertonie. Les premières inquiétudes parentales sont survenues à l'âge de 6mois devant une hypo-utilisation du membre supérieur gauche. Une IRM a été réalisée mettant en évidence une polymicrogyrie de l'hémisphère droit. L'électroencéphalogramme (EEG) était sans particularité. L'enfant ne présentait pas de dysmorphie et avait une croissance staturopondérale et du PC normale. Le caryotype standard était normal. Par la suite, il a présenté un retard du développement psychomoteur modéré avec une marche acquise à 20 mois et un retard de langage avec des premiers mots après 18 mois. Au cours de l'évolution une spasticité modérée du membre inférieur gauche a été notée. Cet enfant a présenté par la suite une épilepsie avec des crises partielles traitées puis des pointes ondes continues du sommeil sont apparues nécessitant une mise sous hydrocortisone. Il a été revu en génétique à l'occasion d'une nouvelle grossesse, la croissance et le PC étaient normaux, la morphologie difficile à évaluer car modifiée par la corticothérapie. Une voix nasonnée était apparue de façon concomitante à la mise en place du traitement. La recherche de microremaniements interstitiels réalisés à cette occasion a mis en évidence une délétion 22q11 classique. L'échographie cardiaque est normale. L'association délétion 22q11 et polymicrogyrie a déjà été rapportée. Elle est le plus souvent asymétrique et à droite. Son origine n'est pas clairement connue ; une insuffisance circulatoire liée à la cardiopathie a été incriminée mais des cas de polymicrogyrie sans cardiopathie (comme le nôtre) sont rapportés. Une délétion 22q11 doit être recherchée dans les cas de polymicrogyrie même dans les cas sans dysmorphie ni cardiopathie.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P268 - GENETIQUE DES TROUBLES DESINTEGRATIFS DE L'ENFANCE (TED): ETUDE PAR CYTOGENETIQUE CLASSIQUE ET PAR CGH-ARRAY D'UNE COHORTE DE PATIENTS

W Fathallah (1), S Mougou (1), N Gaddour (2), D H'mida (1), M Kammoun (1), S Dimassi (1), H Hannachi (1), A Labalme (3), D Sanlaville (4), A Saad (1)

1. Laboratoire de cytogénétique, génétique moléculaire et biologie de reproduction humaines, CHU Farhat Hached Sousse, Tunisie, Sousse, Tunisie
2. Service de pédopsychiatrie, Hopital Fattouma Bourguiba, Monastir, Monastir, Tunisie
3. Service de Cytogénétique Constitutionnelle, CBPE, Hospices Civils de Lyon, Bron, France., Lyon, France
4. Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Bron, France., Lyon, France

Les troubles envahissant de développement (TED) [MIM 209850] sont caractérisés par des troubles du langage, des déficits sociaux, et des comportements répétitifs qui apparaissent avant l'âge de 3 ans. La prévalence des TED est estimée à 1‰. L'étiologie de ces désordres est très hétérogène. Dans 10 à 15 % des cas ils sont associés à une pathologie génétique spécifique. Des études récentes ont démontré que les troubles autistiques sont associés aux variations du nombre de copies (CNV) en tant que facteurs prédisposants.

Notre cohorte comporte 40 patients, âgés de 2 à 9 ans chez qui nous avons entrepris la recherche des anomalies chromosomiques associées aux troubles autistiques par les techniques de caryotype conventionnel, Hybridation In Situ Fluorescente (FISH) ciblée sur 5 régions fréquemment associées aux TED et par CGH array 44K et 180K.

Une anomalie chromosomique impliquant la région 15q11-q13 a été identifiée au caryotype avec une formule 47,XX,+inv dup (15). Cependant, aucune anomalie n'a été détectée par FISH. La CGH array 180K, pratiquée chez deux patientes, a permis d'identifier plusieurs polymorphismes de nombre de copies ou CNPs dont une duplication 16p11.2 et une CNV inconnue. Cette dernière consiste en une duplication Xq13.3 identifiée chez une fille et qui inclut le gène KIAA2022, fortement exprimé dans le cerveau. La délétion de ce gène a été associée au retard mental chez les garçons.

La duplication de la région 15q11-q13 est fréquemment associée à l'autisme. C'est une région qui comprend un groupe de gènes codant pour le récepteur de l'acide γ-aminobutyrique (GABA) impliqué dans la transmission synaptique et donc vraisemblablement un rôle dans la pathogénie de l'autisme. Les CNPs détectés, dont la duplication 16p11.2, pourraient augmenter la prédisposition à ce désordre. Une modulation de l'expression de gène KIAA2022 suite à la duplication Xq13.3 sur le chromosome X actif pourrait être responsable du phénotype modéré de notre patiente. Ces résultats nécessitent des confirmations par d'autres techniques moléculaires à la recherche de l'origine parentale d'une part et donc le caractère causal et de vérifier l'existence d'un biais d'inactivation du chromosome X dupliqué d'autre part.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P269 - DESEQUILIBRES GENOMIQUES CHEZ DES PATIENTS PRESENTANT UNE ANOMALIE DU DEVELOPPEMENT OCULAIRE NON ISOLEE

A Delahaye (1), P Bitoun (2), S Drunat (3), M Gérard-Blanluet (3), N Chassaing (4), A Toutain (5), A Verloes (3), F Gatelais (6), M Legendre (7), L Faivre (8), S Passemard (3), A Aboura (3), S Kaltenbach (3), S Quentin (9), C Dupont (3), AC Tabet (3), S Amselem (7), J Elion (3), P Gressens (10), E Pipiras (1), B Benzacken (1)

1. Service d'Histologie, Embryologie, et Cytogénétique, AP-HP, Hôpital Jean Verdier; Université Paris-Nord, Paris 13, UFR SMBH; Inserm, U676, Paris, France
2. Consultations de génétique médicale, Service de Pédiatrie, AP-HP, Hôpital Jean Verdier, Bondy, France
3. Département de Génétique, AP-HP, Hôpital Robert Debré; Univ Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU Toulouse, Hôpital Purpan, UPS III EA4555, Toulouse, France
5. Département de Génétique, CHU de Tours, Hôpital Bretonneau, Tours, France
6. Service d'endocrinologie diabétologie pédiatrique, CHU d'Angers, Angers, France
7. Département de Génétique, Inserm, U933; Université Paris 6; AP-HP, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
8. Centre de génétique, CHU de Dijon, Dijon, France
9. Plateforme génomique, AP-HP, Hôpital Saint-Louis, Institut Universitaire d'Hématologie, Paris, France
10. U676, Inserm, Paris, France

Soixante-cinq patients présentant une malformation oculaire non expliquée associée à une autre malformation congénitale et/ou à un retard mental ont été analysés en CGH-array.
Pour quatre patients, une délétion causale emportant un gène déjà connu impliqué dans les anomalies du développement oculaire a été identifiée (FOXC1 et OTX2). Des délétions pathogéniques déjà rapportées mais habituellement non associées à une malformation oculaire ont été mises en évidence pour quatre autres patients del(17)(p13.3p13.3), del(10p14p15.3) et del(16)(p11.2p11.2). Nous avons aussi détecté des CNV dont la pathogénicité est incertaine (une délétion et une duplication). La taille des segments impliqués dans les réarrangements identifiés est comprise entre 0,11 et 5,57 Mb.
Ces résultats montrent que le rendement diagnostique de la CGH-array est intéressant chez les patients présentant une malformation oculaire syndromique. Les anomalies identifiées, au-delà leur intérêt diagnostique et pour le conseil génétique, permettent d'établir de nouvelles corrélations génotype-phénotype et de pointer de nouvelles régions potentiellement impliquées dans les malformations oculaires.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P270 - IMPORTANCE DE LA CARACTERISATION DES POINTS DE CASSURE DES INVERSIONS PERICENTRIQUES DU CHROMOSOME 10

A PAUBEL (1), E COLIN (1), M BARTH (1), O INGSTER (1), D BONNEAU (1), A GUICHET (1)
1. Service de Génétique, CHU d'Angers, ANGERS, France

Les inversions péricentriques sont des remaniements chromosomiques fréquents. Parmi les inversions péricentriques considérées comme bénignes, on distingue d'une part les inversions péricentriques qui concernent l'hétérochromatine comme les inv(1), inv(9), inv(16), inv(Y); et d'autre part les cinq inversions péricentriques récurrentes et sans conséquence phénotypique qui concernent l'euchromatine comme l'inv(2)(p11q13), inv(3)(p11q12) ou inv(3)(p13q12), inv(5)(p13q13) et inv(10)(p11.2q21.2).

Nous rapportons dans ce travail les difficultés à caractériser une inversion péricentrique inv(10)(p15.3q24.2) dans une famille puisqu'elle mime en cytogénétique constitutionnelle, pour un degré de résolution standard, une inv(10)(p11.2q21.2). Cette inv(10)(p15.3q24.2) a été diagnostiquée suite à la naissance d'une enfant polymalformée. Elle présentait une formule chromosomique déséquilibrée (association d'une monosomie 10p15.3pter et d'une trisomie 10q24.2qter) par la présence d'un dérivé obtenu suite à une aneusomie de recombinaison d'un chromosome 10 inversé maternel. Nous avons fait des explorations de cytogénétique moléculaire complémentaires pour nous assurer des points de cassure : SNP-array à partir de l'ADN du cas index porteur du der(10) et FISH par peinture chromosomique distincte des bras courts et longs et BACs à partir des préparations chromosomiques de la mère du cas index porteuse de l'inv(10).

A l'heure où nous discutons l'élaboration d'un guide des « bonnes pratiques » - dont celles à adopter devant les inversions péricentriques - et où nous modifions nos pratiques professionnelles avec l'avènement des techniques de cytogénétique moléculaire de haute résolution, cette observation nous amène à être prudents et à repenser les stratégies à mettre en œuvre pour ne pas méconnaître des inversions péricentriques différentes de celles considérées comme sans conséquence phénotypique.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P271 - CARACTERISATION D'UN DERIVE DU CHROMOSOME 9 CHEZ UNE PATIENTE PRESENTANT UNE REVERSION SEXUELLE ASSOCIEE A UN RETARD DE DEVELOPPEMENT ET DES TROUBLES DU COMPORTEMENT DE TYPE AUTISTIQUE.

L Crouzet-Ozenda (1), F Giuliano (1), M Dayem Quere (1), C Massol (1), K Wagner-Mahler (2), JC Lambert (1), V Paquis (1), H Karmous-Benailly (1)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Archet 2, Nice, France
2. Service de Pédiatrie, Hôpitaux CHU-Lenval, Nice, France

Nous présentons ici le cas d'une petite fille de 15 mois, adressée à la consultation de génétique pour hypotonie, retard psychomoteur et trouble de la relation. Son phénotype associe en plus, une dysmorphie et des troubles du comportement avec la présence de traits autistiques. Elle a des caractères sexuels secondaires féminins normaux. Les analyses cytogénétiques effectuées dans un premier temps ont montré un caryotype masculin avec un chromosome 9 présentant une anomalie de structure : 46,XY,der(9). L'analyse en cytogénétique moléculaire par FISH d'une part et par CGH-array d'autre part a permis de caractériser le dérivé du 9 qui provient d'une translocation (8 ; 9) déséquilibrée survenue de novo. Au total, il y a une délétion du segment chromosomique 9p24.3p24.1, d'environ 7.5 Mb et contenant une trentaine de gènes répertoriés dans OMIM, avec notamment les gènes DMRT et un gain de copie du segment chromosomique 8p23.3p21.3, d'environ 23 Mb et contenant une soixantaine de gènes répertoriés dans OMIM. Il a bien été décrit dans la littérature qu'une délétion distale du chromosome 9 emportant les gènes DMRT1 et DMRT3 est responsable d'un phénotype de réversion sexuelle chez un individu ayant un caryotype 46,XY. Nous discuterons de l'implication de la délétion des autres gènes contenus en 9p24.3p24.1 et de la duplication des gènes de la région 8p23.3p21.3 dans le phénotype de notre patiente.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P272 - LES MONOSOMIES 1Q TERMINALES : ANALYSE MOLECULAIRE PAR CGH-ARRAY ET RECHERCHE DE CORRELATIONS GENOTYPE / PHENOTYPE.

A PAUBEL (1), C DUBOURG (2), C LE CAIGNEC (3), S BLESSON (4), MP MOIZARD (4), MA DELRUE (5), D CAILLEY (5), B DEVRIES (6), S LYNCH (7), A TOUTAIN (1)

1. Service de Génétique - UFR Faculté de Médecine - INSERM U930 équipe 2, CHU Bretonneau, TOURS, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Rennes, RENNES, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU de NANTES, NANTES, France
4. Service de Génétique, CHU Bretonneau, TOURS, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, BORDEAUX, France
6. Department of Human Genetics, Radboud University Nijmegen Medical Centre, NIJMEGEN, Pays-bas
7. National Centre of Medical Genetics, Our Lady's Hospital for Sick Children, DUBLIN, Irlande

La monosomie 1q terminale (1qter) est un syndrome rare décrit en 1976 par Mankinen et al., dû à une délétion de la partie terminale du bras long du chromosome 1 (bandes q42 à q44). Elle associe diversement une déficience intellectuelle, un retard de croissance, une microcéphalie, une dysmorphie faciale et des malformations viscérales et du système nerveux, notamment une agénésie du corps calleux. A ce jour, les gènes responsables des signes cliniques de la monosomie 1qter n'ont pas été identifiés, bien que plusieurs publications aient suggéré le rôle potentiel de plusieurs d'entre eux dans la déficience intellectuelle, la microcéphalie et l'agénésie du corps calleux. A partir de 11 patients recensés dans plusieurs centres nous avons effectué une étude moléculaire puis une recherche de corrélation génotype / phénotype afin de tenter d'identifier dans cette région des gènes candidats pour les principaux signes cliniques de la monosomie 1qter.

Ces 11 patients, dont la délétion avait été mise en évidence par cytogénétique, cytogénétique moléculaire ou génétique moléculaire (caryotype, FISH, MLPA, CGH-array), ont été analysés par CGH-array (puces Agilent® 44K), afin de borner avec précision les régions délétées. Cette étude a montré que chez 3 patients la monosomie 1qter n'était pas isolée et ces patients ont été exclus du reste de l'étude. Pour les 8 autres, les résultats de CGH-array ont été confirmés par PCR semi-quantitative en temps réel. La recherche de corrélation génotype / phénotype a été faite tout d'abord sur les données cytogénétiques de nos 8 patients et de 65 cas de monosomie 1qter isolée de la littérature, puis sur des données moléculaires plus fines pour les patients dont les délétions étaient bornées précisément (nos 8 cas et 31 patients publiés).

Ce travail, qui porte sur la plus grande série de patients analysés ne nous a pas permis de mettre en évidence de gènes ou régions d'intérêt qui seraient impliqués dans les signes dysmorphiques et malformatifs de ce syndrome, invalidant ainsi les résultats publiés par certaines équipes. En revanche, une analyse limitée aux délétions qui n'intéressent que la région 1q44, incluant 3 de nos patients et 9 patients de la littérature, nous a permis d'identifier une région critique de 450 kb contenant trois gènes potentiellement impliqués dans la déficience intellectuelle : FAM36A, HNRPU et EFCAB2. Ce résultat, concordant avec des données récentes de la littérature, ouvre des perspectives à la compréhension des mécanismes physiopathologiques de la déficience intellectuelle en général.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P273 - MONOSOMIE 22QTER SECONDAIRE A UNE INVERSION PERICENTRIQUE PATERNELLE DU CHROMOSOME 22 : UN PIEGE DIAGNOSTIC

A PAUBEL (1), A ARDALAN (2), C LE CAIGNEC (3), A CHAILLOUX (4), E JAGUT (4), MA BARTHEZ (5), A TOUTAIN (1)
1. Service de Génétique - UFR Faculté de Médecine - INSERM U930 équipe 2, CHU Bretonneau, TOURS, France
2. Laboratoire de Cytogénétique, BIOMNIS, PARIS, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU de NANTES, NANTES, France
4. Service de Génétique, CHU Bretonneau, TOURS, France
5. Service de Neuropédiatrie, CHU Clocheville, TOURS, France

Les inversions péricentriques sont des remaniements chromosomiques fréquents (1/7000 à 1/10000). Elles ont été décrites pour tous les chromosomes humains. Le risque de survenue d'aneusomie de recombinaison dépend des chromosomes concernés et des points de cassures et varie de 0 à 10% selon les inversions. Celles-ci peuvent être diagnostiquées de manière fortuite ou suite à la naissance d'un enfant porteur d'une formule chromosomique déséquilibrée associant duplication d'une extrémité chromosomique et délétion de l'autre extrémité, par aneusomie de recombinaison.

Nous rapportons le cas d'un enfant porteur d'une délétion 22q13.3 diagnostiquée par MLPA, alors que le caryotype étudié en prénatal avec une résolution de 400 bandes (bandes R) était normal. Le tableau clinique correspondait au phénotype décrit par Phelan. L'HIS de la région 22q13.3 (sonde Cytocell®) avait confirmé la délétion chez l'enfant et avait été répondue normale chez les deux parents. Le couple a ensuite été revu en consultation de génétique suite à la découverte chez le père, sur un caryotype à 550 bandes prescrit pour exploration d'une tératozoospermie, d'une inversion péricentrique du chromosome 22 inv(22)(p11.2q13.3).

Nous avons réexaminé les images d'HIS de l'enfant et des parents et effectué un marquage des préparations chromosomiques du cas index et de son père en bandes NORs. Nous avons pu confirmer l'inversion péricentrique du chromosome 22 paternelle. Quand à l'enfant, il était en réalité porteur d'un chromosome 22 recombiné associant une délétion 22q13.3 et une duplication de la région 22pter [rec(22)del(22q)dup(22p)inv(22)(p11.2q13.3)]. Comme attendu, l'étude en CGH-array (Agilent® 60K) chez l'enfant n'a mis en évidence que la délétion 232q13.3.

Cette observation permet de rappeler que les explorations moléculaires, par MLPA ou CGH-array, n'explorent pas les régions d'organisation nucléolaire des chromosomes acrocentriques. Seul un caryotype de résolution supérieure à 550 bandes (avec bandes R et G) éventuellement associé à un marquage en bandes NORs, permettent de faire le diagnostic d'inversion péricentrique du chromosome 22 et du chromosome 22 recombiné.

A l'heure de l'élaboration d'un guide des 'bonnes pratiques' et de l'avènement des techniques de cytogénétique moléculaire de haute résolution type CGH-array en première intention dans l'exploration des anomalies du développement, cette observation illustre l'importance de la confirmation des anomalies ainsi identifiées par HIS et de continuer à faire en parallèle un caryotype standard chez le cas index et les parents.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P274 - SYNDROME DE POTOCKI-LUPSKI : PREMIERE OBSERVATION D'UN CAS HERITE

A PAUBEL (1), S VONWILL (2), C LE CAIGNEC (3), I MORTEMOUSQUE (2)

1. Service de Génétique - UFR Faculté de Médecine - INSERM U930 équipe 2, CHU Bretonneau, TOURS, France
2. Service de Génétique, CHU Bretonneau, TOURS, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU de NANTES, NANTES, France

Le syndrome de Potocki-Lupski, pathologie décrite en 2007 par Potocki, est secondaire à une duplication de taille variable de la région chromosomique 17p11.2 avec cependant une duplication récurrente de 3,6 Mb. La délétion de cette même région chromosomique est responsable du syndrome de Smith-Magenis.

Le syndrome de Potocki-Lupski associe une hypotonie et des troubles de l'alimentation dans la petite enfance, un retard global de développement, des troubles du comportement et de la communication, des apnées du sommeil, une hypermétropie et des malformations cardiovasculaires (Potocki et col., 2007 et Treadwell-Deering et col., 2010).

Noémie est reçue en consultation de génétique à l'âge de 5 ans et 8 mois en raison d'un trouble global de développement avec un retard de langage sévère et homogène touchant les versants compréhension et expression, associé à quelques particularités morphologiques faciales et une hypermétropie.

Sa mère présente des particularités morphologiques faciales, une hypermétropie, une insuffisance vélaire et un phénotype comportemental atypique avec la notion de difficultés dans les apprentissages scolaires. L'ensemble de ces éléments n'avait toutefois pas fait évoquer l'existence d'une pathologie sous-jacente avant la consultation de génétique.

Une analyse par CGH-array (Agilent 180K) a permis d'identifier chez l'enfant une duplication de 3,6 Mb en 17p11.2 (16.698.089-20.336.274 Hg18), correspondant à la région dupliquée récurrente du syndrome de Potocki-Lupski. L'HIS (sonde RAI1 Cytocell®) a confirmé la présence de la duplication. Les analyses effectuées chez les parents ont identifié la présence de cette même duplication à l'état de mosaïque dans 73% des cellules sanguines de la mère. Ce résultat biologique est concordant avec le phénotype clinique maternel évocateur d'un syndrome de Potocki-Lupski « atténué » par le fait de la mosaïque somatique.

Récemment, Cooper et col. ont fait une revue des microremaniements de moins de 10 Mb diagnostiqués en caryotype moléculaire sur une série de 15 767 échantillons d'ADN de patients atteints d'anomalies du développement. Il a recensé 44 syndromes microdélétionnels (40 récurrents), et 37 syndromes microduplicationnels (32 récurrents dont 9 syndromes de Potocki-Lupski). Parmi ces anomalies chromosomiques, il n'est pas fait mention de leur caractère possiblement hérité.

Certains de ces syndromes nouvellement décrits sont en passe de devenir comme le syndrome microdélétionnel 17q21.31 des syndromes présentant un phénotype clinique reconnaissable, mais nous n'avons pour l'heure pas d'information sur les variabilités phénotypiques éventuelles dans le cas de microremaniement présent à l'état homogène ou de mosaïque.

Nous pensons que devant l'émergence de ces nouvelles pathologies, l'analyse des parents doit être systématique pour ne pas méconnaître une anomalie héritée, ce qui engage le conseil génétique à donner aux familles et leur orientation vers un éventuel DPI.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P275 - LA DELETION 8Q13 EST-ELLE SEULE EN CAUSE DANS LA DYSPLASIE MESOMELIQUE AVEC SYNOSTOSES ACRALES ?

MP CORDIER (1)
1. Génétique clinique, HFME, BRON, France

S. BLANC2
M.P. CORDIER1
P. COCHAT3
P.EDERY1
I. JAMES
D. SANLAVILLE1
M. TILL1

1 Centre de référence des anomalies du développement, Service de Cytogénétique Constitutionnelle, CHU de Lyon
2 Service de Neonatologie, CHU de Lyon
3 Service de nephrologie pédiatrique, CHU de Lyon
4Service de chirurgie infantile, CHU de Lyon

Nous rapportons le cas d'une famille comportant un frère et une sœur atteints d'un même phénotype, absent chez leurs parents, associant : polysyndactylie postaxiale des 4 extrémités, raccourcissement rhizomélique des membres , étroitesse du thorax, freins gingivaux, oreilles petites et mal ourlées, scaphocephalie avec craniosténose chez le garçon, reins hyperechogènes chez la fille, et dysmorphie (nez court, hypertélorisme, philtrum long et effacé, lèvre supérieure fine), évocateur d'une ciliopathie.
Afin d'éventuellement identifier le gène en cause, une CGHarray est demandée chez les deux enfants : la fille est porteuse d'une deletion 8q13.3 de 1,6Mb, incluant entre autres les gènes SULF1 et SLCO5A1 , délétion décrite par B. Isidore and all en 2010, chez 5 sujets non apparentés présentant une dysplasie mésomélique avec synostoses acrales .
Son frère n'en est pas porteur, excluant tout gène de cette région comme impliqué dans ce syndrome. Leur mère en est porteuse, alors qu'elle ne présente, à l'âge de 36 ans, aucun signe clinique ou radiologique caractéristique du syndrome de Verloes-David-Pfeiffer, d'hérédité dominante autosomique (synostoses carpométacarpiennes et tarsométatarsiennes, raccourcissement et incurvation des avant-bras et des jambes, anomalie du col fémoral, dysmorphie faciale).
Cette observation pose le problème du déterminisme de la dysplasie mésomélique avec synostoses acrales , dont la seule délétion 8q13.3 ne semble pas suffire à induire les malformations squelettiques caractéristiques.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P276 - RHOMBENCEPHALOSYNAPSIS : ETUDE PAR CGH-ARRAY D'UNE COHORTE DE 58 PATIENTS

ARRAY-CGH ANALYSIS SUGGESTS GENETIC HETEROGENEITY IN RHOMBENCEPHALOSYNAPSIS.

F DEMURGER (1), L PASQUIER (1), C DUBOURG (2), C EVAIN (3), I GICQUEL (3), S MERCIER (1), C QUELIN (1), P LOGET (4), B LEHEUP (5), S ODENT (1), V DAVID (2)

1. Génétique clinique, CHU Hôpital Sud, RENNES, France
2. Génétique moléculaire, CHU Pontchaillou, RENNES, France
3. Génétique des pathologies liées au développement, Faculté de médecine, RENNES, France
4. Laboratoire d'anatomopathologie, CHU Pontchaillou, RENNES, France
5. Génétique clinique, CHU, NANCY, France

Le rhombencéphalosynapsis (RES) est une malformation rare mais de plus en plus rapportée du fait des progrès récents de l'imagerie anténatale. Cette malformation cérébelleuse est définie par l'association d'une agénésie (complète ou partielle) du vermis et de la fusion des hémisphères cérébelleux. Aucun modèle animal reproduisant le RES n'a été décrit et son étiologie demeure, à ce jour, inconnue.

Une étude collaborative entre plusieurs centres français a permis de recruter à Rennes la plus grande cohorte internationale de patients RES. Afin d'identifier des régions chromosomiques candidates et par conséquent d'éventuels gènes candidats, nous avons réalisé chez les 58 patients de la cohorte une étude pangénomique à l'aide de puces à ADN oligonucléotidiques Agilent. Tous les cas étaient sporadiques excepté un cas de récurrence dans une fratrie et la notion de consanguinité parentale pour deux autres cas. La malformation était isolée ou le plus souvent associée à d'autres malformations du système nerveux central ou extra-neurales. Plusieurs cas présentaient des anomalies entrant dans le cadre de l'association VACTERL ou du syndrome de Gomez-Lopez-Hernandez.

Des réarrangements chromosomiques non récurrents ont été identifiés chez 5 patients (soit 8.6%) notamment une microdélétion de 2,7 Mb dans la région 16p13 emportant 16 gènes dont 3 gènes potentiellement candidats. Une étude d'hybridation in situ sur embryon de poulet a permis de confirmer leur expression au niveau du système nerveux central à différents stades de développement. Le séquençage direct de l'un d'eux sur l'ensemble de la cohorte, n'a pas mis en évidence d'anomalies.

Ces résultats suggèrent une hétérogénéité génétique du rhombencéphalosynapsis. Une analyse par séquençage haut débit des régions candidates sur cette cohorte permettrait de préciser l'étiologie génique de cette pathologie.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P277 - MISE EN EVIDENCE D'UNE DUPLICATION POLYMORPHE DE 13.6MB SUR LE BRAS COURT DU CHROMOSOME 20

A LABALME (1), M ROSSI (2), I MORIN (3), M TILL (3), D SANLAVILLE (4)

1. service de Cytogénétique Constitutionnelle, centre de biologie Est, LYON BRON, France
2. service de cytogénétique constitutionnelle, HFME, LYON BRON, France
3. service de Cytogénétique constitutionnelle, Centre de biologie Est, LYON BRON, France
4. service de cytogénétique constitutionnelle, centre de biologie Est, LYON BRON, France

Nous rapportons l'étude d'une famille dans laquelle ségrége un remaniement chromosomique à type de duplication interstitielle directe de 13,6Mb sur le bras court d'un chromosome 20.

Le patient initialement étudié est un petit garçon de 6 ans présentant un retard des apprentissages : Le caryotype standard a montré la présence d'une trisomie partielle 20p:46,XY,dup(20)(p11.1p11.2) confirmée par FISH.

Afin d'écarter l'éventuelle présence d'un remaniement équilibré chez l'un des parents une étude familiale a été réalisée. Cette étude familiale a été étendue à l'une des sœurs enceinte au moment de la consultation.

Les résultats de cette étude ont montré que la mère et la sœur étaient toutes deux porteuses de cette duplication. Aucune d'entre elles n'a de problème spécifique de santé ou de difficultés d'apprentissage.

Une étude par ACPA (Analyse Chromosomique par Puce à ADN) a alors été réalisée pour comparer la taille de la duplication maternelle à celle de son fils. Cette étude a mis en évidence un remaniement de taille identique transmis de la mère à son fils. Il s'agit d'une duplication 20p12.1p11.1 de 13.6 Mb. Cette duplication qui bien que comprenant plus de 100 gènes ne peut donc pas être retenue comme expliquant les difficultés rencontrées chez le patient.

De plus, un phénomène d'empreinte parentale peut également être exclus puisque la sœur de ce patient porteuse elle aussi de la duplication ne présente aucun problème particulier.

En conclusion, il s'agit là d'un rare cas où un remaniement de très grande taille ne peut à lui seul expliquer le phénotype. Ces résultats amènent à discuter les conclusions portées par L. Faivre et al. 2000, incriminant une duplication 20p11.2p12.1 en mosaïque de novo chez un patient présentant un syndrome de Sotos.

Cette étude nous montre donc qu'il est important de garder en mémoire que de grands remaniements peuvent être bénins et qu'inversement de petits remaniements peuvent être pathogènes. Tout le conseil génétique peut en être changé. Ces études par ACPA nous ont montré qu'il est nécessaire de réaliser un bilan familial complet avant de pouvoir conclure à la responsabilité d'un remaniement chromosomique pour le phénotype d'un patient

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P278 - ETUDE PAR ACPA ENRICHIE AU NIVEAU DU CHROMOSOME X DE 21 PATIENTS PRESENTANT UN RETARD MENTAL LIE A L'X : INTERET D'UNE PUCE PANGENOMIQUE.

A LABALME (1), P EDERY (2), G LESCA (3), M ROSSI (2), M TILL (4), D SANLAVILLE (3), V DES PORTES (5)
1. service de Cytogénétique Constitutionnelle, centre de biologie Est, LYON BRON, France
2. service de cytogénétique constitutionnelle, HFME, LYON BRON, France
3. service de cytogénétique constitutionnelle, centre de biologie Est, LYON BRON, France
4. service de Cytogénétique constitutionnelle, Centre de biologie Est, LYON BRON, France
5. service de neuropédiatrie, HFME, LYON BRON, France

21 cas index de familles incluses dans un PHRC régional de Retard Mental Lié au chromosome X ont été investigués par Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) sur des puces personnalisées oligonucléotide d'Agilent® enrichies au niveau du chromosome X.
Pour être incluses dans le cadre du PHRC, chaque famille devait présenter au moins 2 garçons ayant un QI < à 70 et reliés par une femme. La majorité des familles recrutées comportait 2 ou 3 garçons atteints, enfants d'une même mère, en faveur d'une possible hérédité liée au chr X.
La puce utilisée pour cette étude est une puce maison contenant 101,261 sondes sur le chromosome X et parmi toutes ces sondes 75,290 sont intra-géniques. Cette puce a été dessinée de façon à avoir la meilleure couverture possible au niveau des 82 gènes rapportés pour être impliqué dans le RM lié à l'X (P. Churazzi et al. 2008). La résolution de la puce descend jusqu'à 100 pb en intra-génique dans les gènes liés au retard mental tandis que sa résolution moyenne est de 1,530 pb sur le reste du chromosome X.
Deux formats de puce ont été créés. Un format 244K qui permet d'avoir une résolution moyenne de 28.5 Kb sur les autosomes et un format 4X180K qui permet d'avoir une résolution de 55 Kb sur les autosomes.
Sur les 21 cas étudiés, aucun remaniement pathogène n'a été décelé au niveau du chromosome X. Plusieurs micro-délétions ou micro-duplications de petite taille (< 500 pb) non répertoriées sur la base de Toronto ont été mises en évidence, mais toutes ont été retrouvées chez des apparentés non atteints. La plupart de ces microremaniements sont introniques, nous avons donc conclu qu'il s'agissait très probablement de polymorphismes.
En revanche nous avons pu mettre en évidence 4 remaniements pathogènes (chez 3 patients) au niveau des autosomes.
Le premier cas concerne une famille composée de 3 garçons. Tous 3 présentent le même tableau clinique caractérisé par un retard cognitif global et des particularités morphologiques. Dans cette famille une duplication de 2.5 Mb en 17q23.3 et une délétion de 3.65 Mb en 21q22.3 ont été identifiées. Ces remaniements correspondent à la transmission du dérivé 21 d'une t(17 ;21)(q23.3 ;q22.3) maternelle équilibrée .
Chez un garçon présentant un retard de développement global (également présent chez un cousin maternel) et quelques petits signes nous avons également pu mettre en évidence une délétion de 2.6 Mb en 12p13.1p12.3 Une étude familiale est en cours.
Enfin une délétion en 22q11.21 de 2.52 Mb correspondant à la microdélétion récurrente classique a été détectée chez un dernier patient présentant un retard des acquisitions comme un de ses cousins maternels. Une étude familiale est en cours.

Au final, cette étude montre tout l'intérêt d'utiliser des puces pangénomiques même en cas de suspicion d'un mode d'hérédité lié au chromosome X, ceci, afin d'avoir la possibilité de détecter des micro-remaniements intra-familiaux récurrents, ou des micro-remaniements atypiques.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P279 - ETUDE DE 5 PATIENTS PRESENTANT L'ASSOCIATION HEMOPHILIE B ET DEFICIENCE INTELLECTUELLE EN ANALYSE CHROMOSOMIQUE SUR PUCE A ADN.

D SANLAVILLE (1), ML CARAGE (2), A LABALME (3), D PELLECCHIA (2), M FRETIGNY (2), C ZAWADZKI (4), C NEGRIER (2), C VINCIGUERRA (2)

1. service de cytogénétique constitutionnelle, centre de biologie Est, LYON BRON, France
2. service d'hématologie biologique, HEH, LYON, France
3. service de Cytogénétique Constitutionnelle, centre de biologie Est, LYON BRON, France
4. pôle d'hématologie transfusion, Centre de biologie et pathologie, LILLE, France

Introduction : L'hémophilie B est une maladie constitutionnelle de transmission héréditaire selon un mode récessif lié au sexe, secondaire à un déficit en Facteur IX (FIX). Le gène du FIX (F9) est localisé en Xq28. Nous rapportons 5 patients présentant l'association rare hémophilie B et déficience intellectuelle.

Matériels et méthodes : 4 hommes et 1 femme avec une hémophilie B sévère. Le taux de FIX:C est inférieur à 0,10 UI/ml chez les sujets masculins et 0,7 chez la femme. Ces patients présentent une déficience intellectuelle modérée (n=2) ou sévère (n=3). Il est également rapporté une hypotonie avec une avance staturopondérale (n=2), un hypogénitalisme ou une scoliose (n=1). Chez tous les hommes des anti-corps anti-FIX ont été détectés. Des délétions au sein du F9 ont été initialement mises en évidence par PCR et ou MLPA. Afin de caractériser ces délétions, une étude en ACPA (Analyse Chromosomique par Puce à ADN) a été réalisée avec une puce maison contenant 101,261 sondes sur le chromosome X dont 75,290 intra-géniques. La résolution de la puce descend jusqu'à 100 pb en intra-génique dans plusieurs gènes, dont les gènes du F8 et du F9 tandis que sa résolution moyenne est de 1,530 pb sur le reste du chromosome X. Cette puce 244 k permet d'obtenir également une couverture sur le reste du génome de l'ordre de 30 kb.

Résultats : Une grande délétion Xq incluant le gène du F9 a été trouvée chez tous les patients. La taille des délétions varie de 2 à 9,2 Mb. Le nombre de gènes délétés va de 14 à 29. Tous les points de cassures trouvés en ACPA ont été confirmés en PCR et/ou MLPC.

Discussion : La taille des délétions est largement supérieure à la taille du gène du F9. Aucun point de cassure récurrent n'a été mis en évidence. Chez la patiente, la délétion Xq comprend le gène FMR1. L'association d'une déficience intellectuelle et d'un taux faible de FIX:C suggère un biais d'inactivation du chromosome X. Chez les hommes l'association déficience intellectuelle et hémophilie B peut-être expliquées par la taille des délétions mises en évidence. Nous préconisons de proposer systématiquement une étude en ACPA chez les patients avec une hémophilie B associée à une déficience intellectuelle chez lesquels une étude en PCR et/ou MLPA a détecté une délétion ; afin d'adapter le conseil génétique dans ces familles.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P280 - MISE EN EVIDENCE D'UNE REGION CRITIQUE MINIMALE IMPLIQUEE DANS LE SYNDROME DE LA DELETION 4Q21.

M Dayem-Quere (1), F Giuliano (2), C Massol (2), L Crouzet-Ozenda (2), JC Lambert (3), V Paquis (1), H Karmous-Benailly (1)

1. Service de Génétique, Hopital de l'Archet II, CHU de Nice, Nice, France
2. Service de génétique, Hôpital de l'Archet II, CHU de Nice, Nice, France
3. Service de Génétique, Hôpital de l'Archet II, CHU de Nice, Nice, France

Des délétions interstitielles impliquant la région chromosomique 4q21q22 ont été décrites dans plus de 20 patients répertoriés dans la littérature. Bien que de tailles différentes, la plupart de ces délétions ont pour conséquence phénotypique un retard de croissance ainsi qu'un retard mental. Les autres traits cliniques communs à ces patients comprennent une hypotonie néonatale, un retard psychomoteur sévère, une dysmorphie faciale particulière, une absence ou un retard de langage, et une petite taille. Une étude récente (Bonnet et al, 2010) sur neuf patients porteurs d'une microdélétion 4q21 de novo a permis de mettre en évidence une région critique minimale responsable de la petite taille ainsi que du retard mental de ces patients. Cette région comprend les gènes PRKG2, RASGEF1B, HNRNPD, HNRPDL et ENOPH1. Nous exposons ici le cas d'un patient porteur d'une microdélétion 4q21 de novo, de plus petite taille que les délétions déjà décrites. Cette délétion recoupe une partie de la région critique minimale précédemment définie qui n'implique que les gènes HNRNPD, HNRPDL et ENOPH1. Nous discuterons du phénotype de notre patient, qui, de manière intéressante, présente un retard mental, une absence de langage, ainsi qu'une dysmorphie, mais est de taille normale.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P281 - TETRASOMIE 9P EN MOSAÏQUE : UN PHENOTYPE RECONNAISSABLE

E BRISCHOUX-BOUCHER (1), A LUQUAIN (2), MA COLLONGE-RAME (3), JL BRESSON (2), L VAN MALDERGEM (1)
1. Centre de Génétique Humaine, CHU Saint Jacques, Université de Franche-Comté, Besançon, France
2. Service de GBHBDR, CHU Saint Jacques, Université de Franche-Comté, Besançon, France
3. Service GBHBDR, CHU Saint Jacques, Université de Franche-Comté, Besançon, France

La tétrasomie des bras courts du chromosome 9 est une entité rare. Depuis sa première description, 37 cas en mosaïque ont été publiés. Nous rapportons le cas d'une patiente présentant une tétrasomie 9p en mosaïque. Le phénotype habituellement décrit associe un retard de croissance intra-utérin, une déficience intellectuelle, des particularités crâniofaciales et une pathologie malformative généralement sévère (système nerveux central, cœur, squelette, appareil urogénital). La patiente, âgée de 6 ans, issue de parents non consanguins d'origine algérienne, présente un phénotype atténué avec une déficience intellectuelle légère et l'absence de malformation associée. Sa dysmorphie faciale est caractérisée par une hypotrichie, un télécanthus, une racine du nez proéminente avec un aspect en casque grec et une lèvre inférieure charnue. Une langue en carte de géographie, une plagiocéphalie occipitale et une érythrose palmaire sont également notées. Le caryotype lymphocytaire indique une mosaïque avec 16 % de caryotypes normaux. Les autres lignées, soit 84%, sont aneuploïdes. Au total, le caryotype est le suivant : mos 47,XX,+psu idic(9)(pter->q12::q12->pter)[42]/46,XX[8].ish psu idic(9)(subtel9p++,subtel9q-,D9Z1++)[5]. Les caryotypes parentaux sont normaux. Ce résultat est confirmé par des bandes C et de l'hybridation in situ fluorescente avec les sondes télomériques 9p/9q, WCP9 et D9Z1. Il est paradoxal, tandis que la plupart des observations rapportées dans la littérature concernent des sujets présentant une déficience intellectuelle sévère, que la patiente soit légèrement atteinte. Une proportion moindre de cellules aneuploïdes au niveau du système nerveux central (versus 84% au niveau des lymphocytes analysés) pourrait constituer une hypothèse explicative.

Mots clés : tétrasomie 9p, déficience intellectuelle, dysmorphie faciale

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P282 - CNVS ET RETARD MENTAL : LIMITES,LIEN DE CAUSALITE ET UN EXEMPLE A L'ETUDE

CNVS AND MENTAL RETARDATION: LIMITS, CAUSALITY AND AN EXAMPLE OF STUDY.

H BEN KHELIFA (1), S MOUGOU (1), N SOYAH (2), I BEN ABDALLAH (1), H GUILBERT (3), C PERBET (3), A LABALME (3), D SANLAVILLE (3), A SAAD (1)

1. laboratoire de cytogénétique, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie
2. Service de Pédiatrie, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie
3. laboratoire de cytogénétique, Centre de Biologie et Pathologie Est, Lyon, France

La généralisation de la technique CGH array chez des patients atteints du retard mental a fait émerger de nouvelles aberrations chromosomiques. Cependant, le caractère pathogène reste difficile à affirmer avec certitude essentiellement après la vérification par PCR quantitative (qPCR), ce qui a permis de caractériser des microremaniements souvent hérités. Une étude cytogénétique a été réalisée chez un enfant âgé de 5 ans, issu d'un mariage consanguin et présentant un retard mental modéré à sévère associé à une encéphalopathie fixée avec des troubles de langage et une dysmorphie craniofaciale. Les parents se portent bien mais le frère partage le même phénotype que notre patient. L'analyse par caryotype en bandes R est revenue normale. La CGH array de type oligo (Agilent 180K) réalisée chez ce patient a mis en évidence trois microduplications cryptiques déséquilibrées en 1p22.2 de 424,906 pb, en 17p11.2 de 123,600 pb et en Xq28 de 168,943 pb. En raison de comprendre la causalité de ces anomalies ainsi que l'origine parentale, l'analyse génétique a été complétée par qPCR en ciblant 3 gènes respectivement LRRC8B, CYTSB et MAMLD1 .Le résultat de la PCR quantitative a montré une origine paternelle des deux microduplications en 1p22.2 et en 17p11.2 tandis que la duplication en Xq28 est héritée de la mère. En contre partie, l'analyse par qPCR du frère atteint a révélé la présence uniquement de la microduplication en 17p11.2 héritée de son père.
Cette observation illustre la nécessité absolue de la vérification des micro remaniements trouvés par CGH array, de taille inferieure à 200kb, essentiellement par qPCR vue les difficultés trouvées lors de la détermination du rapport génotype- phénotype.
Mots clé: Retard mental,anomalies chromosomiques,CGH array,PCR quantitative.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P283 - SIGNES CLINIQUES ET ANALYSE CYTOGENETIQUE D'UN CHROMOSOME 18 EN ANNEAU: A PROPOS D'UN NOUVEAU CAS

A AMOURI (1), M BEJAOUI (2), I CHEMKHI (1), N DHOUIB (2), S HENTATI (1), O KILANI (1)
1. Laboratoire de CYTOGENETIQUE, Institut Pasteur, Tunis, Tunisie
2. Pédiatrique, Centre National de Greffe de Moelle Osseuse (CNGMO), Tunis, Tunisie

Le chromosome 18 en anneau est une anomalie chromosomique rare, sa prévalence est

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P284 - CARACTERISATION D'UNE NOUVELLE DELETION INTERSTITIELLE EN 6Q21-Q22.1 CHEZ UNE PATIENTE PRESENTANT UNE MICROCEPHALIE, UNE TRIGONOCEPHALIE, UNE HYPOTONIE ET UNE DYSMORPHIE FACIALE.

S Moortgat (1), Ch Verellen-Dumoulin (1), B Grisart (1), M Mathot (2), I Maystadt (1)
1. Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies (Charleroi), Belgique
2. Service de Neuropédiatre, Clinique Sainte-Elisabeth, Namur, Belgique

Nous rapportons le cas d'une patiente âgée de 6 mois présentant une hypotonie axiale, un retard de développement et une microcéphalie, associée à une trigonocéphalie et une dysmorphie faciale. Le périmètre crânien évalué au P10 à la naissance se situe à -3DS à 6 mois de vie, pour une croissance staturo-pondérale au P50. A l'âge de 6 mois, présente une hypotonie axiale. Elle a cependant acquis le maintien de la tête. La dysmorphie faciale consiste en des bosses frontales marquées et une trigonocéphalie, des cils et des sourcils fins et épars, un hypertélorisme, un épicanthus avec télécanthus bilatéral, une racine du nez large et plate, de petites oreilles mal ourlées et bas implantées ainsi qu'une micrognathie. L'examen ophtalmologique révèle un strabisme divergent et une possible apraxie oculo-motrice. Le caryotype standard est normal 46, XX. L'analyse en CGH-array (Agilent 60K) met en évidence une délétion de 7.6 Mb en 6q21-q22.1. Cette délétion, apparue de novo, emporte 45 gènes dont certains sont hyperexprimés au niveau cérébral (ZUFSP, KPNA5, FRK REV3L, SLC22A16…) ou au niveau musculaire (VGLL2, WISP3…). La région comprend également le gène COL10A1 dont des mutations à l'état hétérozygote sont décrites chez des patients présentant une forme rare de chondrodysplasie métaphysaire (type Schmid), ainsi que le gène CDK19 dont l'haplo-insuffisance a récemment été rapportée chez une patiente présentant un retard mental, une microcéphalie et une dysplasie rétinienne (Mukhopadhyay A. et al, Hum Genet, 2010). A notre connaissance, il s'agit de la première description de délétion interstitielle en 6q21-q22.1. Nous discutons des caractéristiques phénotypiques et du caractère hautement suspect de pathogénicité liés à cette délétion.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P285 - DYSPRAXIE VERBALE SANS DEFICIENCE INTELLECTUELLE CHEZ UNE PATIENTE PORTEUSE D'UNE DELETION 5P

S Marignier (1), G Lesca (2), J Marguin (1), G Bussy (1), D Sanlaville (2), V Des Portes (1)

1. Centre de référence « déficiences intellectuelles de causes rares », Hospices Civils de Lyon, HFME, Bron, France
2. Centre de référence maladies rares « anomalies du développement », Hospices Civils de Lyon, HFME, Bron, France

Introduction

Le syndrome du Cri du Chat est une anomalie chromosomique résultant d'une délétion de taille variable de l'extrémité du bras court du chromosome 5, dont l'incidence est évaluée à 1/50 000 naissances environ. Le diagnostic est le plus souvent porté à la naissance en raison d'un cri particulier, lié à une anomalie laryngée, évoquant un miaulement. Les manifestations cliniques associent un retard psychomoteur souvent considéré comme sévère, des troubles sévères du langage, des difficultés alimentaires, une dysmorphie faciale et parfois des malformations viscérales.

Observation

Nous rapportons l'observation d'une enfant de 11 ans chez laquelle le diagnostic de syndrome du cri du chat a été posé dans le cadre de l'exploration d'un trouble sévère du langage oral faisant évoquer une dyspraxie verbale. Nous rapportons les résultats du bilan de langage qui montre notamment des niveaux de vocabulaire en modalité expressive et réceptive normaux, du bilan psychomoteur et du bilan attentionnel.

Etude génétique

Une étude cytogénétique a été effectuée associant un caryotype et une étude en CGH-array. Une délétion de la région 5p15.2-5p15.3 a été mise en évidence. Sa taille est de 12.85 Mb, et elle s'étend de la position 1 à la position 12.853,210 bp (version hg18 du génome humain). L'étude des prélèvements des parents a montré qu'elle était survenue de novo.

Discussion

Le cas de cette patiente est intéressant car il montre la variabilité du phénotype dans la délétion classiquement décrite dans le syndrome du cri du chat. Le syndrome de cri du chat comporte une déficience intellectuelle généralement sévère alors que cette patiente présente une efficience intellectuelle normale avec des résultats dans la norme pour l'âge aux épreuves de catégorisation. La revue de la littérature montre habituellement une corrélation entre la taille de la délétion et la sévérité de l'atteinte cognitive. La question de la sévérité de la déficience intellectuelle des cas décrits dans la littérature peut-être posée au regard de notre observation, les résultats de la psychométrie pouvant être bas en raison de l'association des difficultés langagières et motrices. Une étude plus poussée du langage et une évaluation neuropsychologique poussée, non limitée aux échelles de Wechsler pourraient être proposée chez les patients porteurs d'un syndrome du cri du chat. En effet, l'élimination d'une déficience intellectuelle a des implications majeures pour l'orientation scolaire et une prise en charge plus ciblée pourrait améliorer le pronostic des patients présentant un syndrome du cri du chat. L'origine génétique de la dyspraxie verbale a été décrite dans de rares cas, notamment associés à des mutations ou microdélétions impliquant le gène FOXP2. Nous décrivons ici une autre étiologie possible, à savoir une délétion 5p. Ce cas clinique montre l'intérêt de réaliser une analyse chromosomique chez les patients présentant une dyspraxie verbale.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P287 - DELETION HNF1B ET TROUBLES NEUROLOGIQUES: UNE ASSOCIATION NON FORTUITE

F Laffargue (1), B Llanas (2), V Baudouin (3), A Lahoche (4), JB Palcoux (5), D Morin (6), L De Parscau (7), C Bahans (1), MA Delrue (8), E Dizier (1), E Taupiac (8), N Rodier (9), D Lacombe (8), S Bourthoumieu (10), V Guigonis (1)

1. Service de Pédiatrie, CHU, Limoges, France
2. Service de Pédiatrie, CHU, Bordeaux, France
3. Service de Pédiatrie, CHU Robert Debré APHP, Paris, France
4. Service de Pédiatrie, CHU, Lille, France
5. service de Pédiatrie, CHU, Clermont-Ferrand, France
6. Service de Pédiatrie, CHU, Montpellier, France
7. Service de Pédiatrie, CHU, Brest, France
8. Service de Génétique Médicale, CHU, Bordeaux, France
9. CIC, CHU, Limoges, France
10. Service de Cytogénétique, CHU, Limoges, France

L'atteinte du gène HNF1B situé en 17q12 est principalement responsable chez l'enfant d'anomalies rénales. Deux types d'atteintes du gène sont décrits : mutations et délétions. Selon les données de la littérature, les délétions ne seraient pas limitées au gène mais incluraient 15 gènes. Par conséquent, elles correspondraient aux remaniements génomiques 17q12 diagnostiqués par CGH array et classiquement associés à des troubles neuropsychologiques.

Objectifs : Les objectifs de notre étude étaient de déterminer si les patients, connus pour avoir une délétion du gène HNF1B, étaient porteurs d'une microdélétion 17q12 et de décrire le phénotype neuromorphopsychologique des enfants avec une microdélétion en le comparant à celui des patients présentant une atteinte monogénique.

Matériel et méthodes : 29 enfants suivis en néphrologie pour des anomalies rénales secondaires à une atteinte du gène diagnostiquée par biologie moléculaire (18 délétions, 11 mutations) ont été inclus. L'analyse cytogénétique, réservée aux patients porteurs d'une délétion, reposait sur une technique de Fluorescence In Situ hybridation sur frottis jugal. L'analyse clinique comportait un questionnaire et des photographies. Un sous-groupe de patients a bénéficié d'une évaluation neuropsychologique.

Résultats : Une microdélétion en 17q12 (≥ 1,3 Mb) a systématiquement été mise en évidence chez les patients porteurs d'une délétion du gène. Les enfants présentant une microdélétion avaient tendance à présenter plus de troubles neuropsychologiques (modérés) que ceux avec une mutation du gène. Une tendance à un quotient intellectuel plus faible a été retrouvé dans le groupe microdélétion (p=0,06). Des signes dysmorphiques mineurs – front haut, yeux cernés et joues pleines (p

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P288 - MONOSOMIE 7Q PARTIELLE EN MOSAÏQUE, CHEZ UN HOMME FERTILE AU PHENOTYPE NORMAL.

PARTIAL MONOSOMY 7Q IN MOSAÏCISM, IN A FERTIL MAN WITH NORMAL PHENOTYPE.

ali RECEVEUR (1), jor ANDRIEUX (2), cat VERGNE (3), gil MORIN (4), Sam KANAFANI (1), nic TANG (1), cat QUIBEL (1), jea GONDRY (3), hen COPIN (1)

1. Service de Médecine et Biologie de la Reproduction, et de Cytogénétique, CHU Amiens, AMIENS, France
2. Institut de génétique médicale, hôpital Jeanne de Flandre, LILLE, France
3. Gynéco obstétrique, CHU Amiens, AMIENS, France
4. Pédiatrie génétique, CHU Amiens, AMIENS, France

Les translocations réciproques sont des remaniements chromosomiques fréquents, hérités ou de novo.
Nous rapportons le cas d'une translocation familiale déséquilibrée découverte lors d'un bilan prénatal pour un syndrome polymalformatif.
L'échographie de seconde intention (22SA) de Mme M., 26 ans, G1P0, réalisée au CPDPN d'Amiens, a confirmé un syndrome polymalformatif associant une microcéphalie, une agénésie du corps calleux et une fente labio alvéolaire ; le bas du rachis n'est pas visualisé, et on note une malformation des membres inférieurs avec un pied fendu.
Le caryotype réalisé au moment de l'IMG a mis en évidence un dérivé d'un chromosome 7, homogène.
Cette grande délétion emporte des gènes impliqués dans le développement du système nerveux central et la région caudale (MNX1 et SHH).
L'étude familiale retrouve chez le père, une translocation t(7;12), avec un déséquilibre, en mosaïque modérée, le dérivé étant identique à celui du foetus. Le caryotype obtenu est le suivant : 46,XY,t(7;12)(q33;p13)[16]/46,XY,der(7)t(7;12)(q33;p13)[3]
L'examen de FISH a confirmé ce mosaïcisme dans 17% des cellules.
Le caryotype sur les fibroblastes a montré la même proportion de cellules déséquilibrées, ainsi que la CGHarray qui a précisé la taille de la délétion qui est de 23Mb.
L'examen clinique du patient est strictement normal, et il ne présente ni retard mental ou des acquisitions, et est actuellement cadre dans une grande entreprise.

En conséquence, il s'agit d'un cas de caryotype déséquilibré en mosaïque, réalisant une monosomie partielle du bras long d'un chromosome 7 et une trisomie partielle de l'extrémité distale du bras court d'un chromosome 12.
Bien que le caryotype sur deux tissus montre le même mosaïcisme, cela ne préjuge en rien de la répartition de la délétion dans des tissus cibles notamment le cerveau.
Le cas de ce patient pose question quand au mécanisme du remaniement, qui peut supposer une perte du dérivé 12 en post zygotique, suivi d'une duplication du 12 normal.
Ce type de remaniement présente d'une part un risque non négligeable de perturbation de la fonction spermatique, ce qui n'était pas le cas pour notre patient, et de l'autre un risque important de transmission déséquilibrée de la translocation. Une nouvelle grossesse spontanée 6 mois après l'IMG, a montré un caryotype sans remaniement.

Deux cas familiaux sont répertoriés dans la littérature, pour lesquels une translocation t(8;13)(p21;q22) était déséquilibrée avec les deux dérivés adjacents 1 homogènes, sans manifestation clinique. On note cependant que les segments perdus ou excédentaires étaient de petite taille.

Ce cas particulier illustre le fait que les caractères phénotypiques soient inhérents à la répartition des cellules anormales dans l'organisme. Dans notre cas, l'absence de signe clinique suggère que le système nerveux central comporte essentiellement des cellules au caryotype équilibré.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P289 - DIAGNOSTIC DES DISOMIES UNIPARENTALES : INTERET DES PUCES SNP PAR RAPPORT A LA CGH ARRAY

B Keren (1), S Chantot-Bastaraud (2), A Jacquette (3), C Mach (4), C Mignot (3), A Afenjar (5), A Faudet (3), L Burglen (5), MF Portnoï (2), A Brice (6), JP Siffroi (7), D Héron (8)

1. Département de Génétique et Cytogénétique, Plateau Mutualisé de Génétique Constitutionnelle du GHU-Est, CRicm UPMC Inserm UMR_S975/CNRS UMR 7225, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
2. Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, UPMC INSERM, UMR S933, Hôpital Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France
3. Unité Fonctionnelle de Génétique Médicale, Département de Génétique et Cytogénétique, Centre de Référence « Déficiences intellectuelles de causes rares », Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
4. Département de Génétique et Cytogénétique, Plateau Mutualisé de Génétique Constitutionnelle du GHU-Est, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
5. Unité de Génétique Clinique et Neurogénétique, Hôpital Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France
6. Unité Fonctionnelle de Génétique Médicale, Département de Génétique et Cytogénétique, Centre de Référence des Maladies Neurogénétiques, CRicm UPMC Inserm UMR_S975/CNRS UMR 7225, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
7. Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, UPMC Inserm, UMR S933, Hôpital Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France
8. Unité Fonctionnelle de Génétique Médicale, Département de Génétique et Cytogénétique, Centre de Référence « Déficiences intellectuelles de causes rares », CRicm UPMC Inserm UMR_S975/CNRS UMR 7225, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France

La CGH-array constitue l'avancée la plus significative de ces dernières années dans le diagnostic des réarrangements chromosomiques responsables de déficience intellectuelle (DI). En alternative, les puces SNP peuvent être utilisées dans cette indication, permettant d'étudier non seulement le nombre de copies, mais également le génotype SNP.

Grâce à cette technique, de grandes régions d'homozygotie sans variation du nombre de copies peuvent être mises en évidence. Celles-ci peuvent correspondre à deux situations différentes : 1) une consanguinité : dans ce cas, ces régions sont le plus souvent présentes sur plusieurs chromosomes, 2) une isodisomie uniparentale (UPD) : dans ce cas, ces régions ne sont présentes que sur un seul chromosome. Les UPD peuvent être impliquées en pathologie humaine soit par une dysrégulation de l'expression des gènes soumis à l'empreinte parentale, soit du fait d'une mutation à l'état homozygote dans un gène récessif.

Dans notre centre, depuis fin 2007, nous avons effectué une analyse en puce SNP pour recherche de réarrangement chromosomique chez environ 1600 cas index, atteints de DI syndromique ou non. Sur cette série, nous avons diagnostiqué une UPD chez 8 patients (soit 0,5 %).

Parmi celles-ci, un diagnostic a pu être posé de façon certaine dans 2 cas :

- 1 UPD maternelle du 15 révélant un syndrome de Prader-Willi avec un phénotype atypique mais compatible.
- 1 UPD paternelle du 9. Cette UPD nous a conduits à rechercher une trisomie du 9 en mosaïque sur fibroblastes qui a été confirmée. Le phénotype était cohérent avec ce diagnostic.

Dans les 6 autres cas, il n'a pas été possible de conclure de façon définitive :

- 2 UPD paternelles du 16. Plusieurs UPD maternelles du 16 ont été décrites, mais les UPD d'origine paternelle sont très rares, et de phénotype incertain. Il est donc difficile de conclure avec certitude sur l'effet pathogène de l'anomalie, ce d'autant que les phénotypes des 2 patients ne sont pas concordants.
- 1 UPD du 4. Aucun syndrome connu n'est causé par une UPD de ce chromosome et la recherche de trisomie en mosaïque est négative.

Dans ces 3 précédents cas, une mutation dans un gène récessif pourrait expliquer le rôle de l'UPD dans la pathologie.

- 1 UPD paternelle 11p segmentaire en mosaïque, identique sur le plan moléculaire à un syndrome de Wiedemann-Beckwith. Toutefois cette patiente ne présentait aucun signe de ce

syndrome, et une mutation du gène TUBA1A a ensuite été mise en évidence, du fait de malformations cérébrales évocatrices.
- Des UPD segmentaires et en mosaïque 1q, 2p et 7q. Dans ce cas, l'effet pathogène de l'UPD est incertain, ce type d'anomalie ayant déjà été décrit chez des sujets contrôles.
Au total, l'expérience de notre centre tend à démontrer que les puces SNP présentent un réel intérêt en diagnostic, comparées à la CGH-array, du fait de la détection des UPD, même si leur interprétation, peut être difficile et incertaine dans certains cas, en l'état actuel des connaissances.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P290 - DELETION INTRAGENIQUE DU GENE DE LA NEUREXINE 1 (NRXN1) ET TROUBLES AUTISTIQUES, A PROPOS D'UN CAS . INTRAGENIC DELETION OF NEUREXIN 1 (NRXN1) AND AUTISM SPECTRUM DISORDER : A CASE REPORT.

R Dard (1), E Landais (1), C Leroy (1), N Gruson (2), P Jonveaux (3), M Beri (3), C Bonnet (3), C Vermeulen (4), A Lannoy (1), D Gaillard (1), M Doco-Fenzy (1)

1. Service de Génétique, Hopital Maison Blanche CHU-Reims, Reims, France
2. Médecine générale, -, Sézanne, France
3. Laboratoire de génétique, Hopitaux de Brabois CHU-Nancy, Nancy, France
4. Psychiatrie, E.P.S.D.M, Chalôn-en-Champagne, France

Les troubles du spectre autistique sont des désordres cognitifs dont l'origine génétique est maintenant largement rapportée. Ces troubles du comportement, de la communication et de la socialisation sont liés à une anomalie du développement cérébral, notament dans la formation et la maturation des synapses.
Parmi les protéines impliquées, les Neurexines sont des récepteurs membranaires pré-synaptiques très polymorphes interagissant avec les Neuroligines post-synaptiques et d'autres protéines dont SHANK.

Nous rapportons ici le cas d'un patient présentant un retard des acquisitions et des troubles du comportement apparus vers l'âge de 4 ans avec stéréotypie verbale, gestes rituels, absence de contact, apathie, hallucinations se compliquant de retard scolaire, puis d'épilepsie sans anomalie à l'IRM. Nous le voyons à 24 ans : il présente un retard mental lèger, une dysmorphie faciale avec un visage ovale, un menton allongé, une petite bouche, un front dégarni, une aplasie malaire, des sourcils fournis, un nez fin. Il a des jambes fines, une taille, un poids et un périmètre crânien dans la moyenne et des neavi multiples.
L'étude cytogénétique par CGH-array réalisée avec une lame 180K a identifié une délétion en 2p16.3 : arr 2p16.3 (50 322 961-50 746 410) x1. Celle-ci est d'une taille minimale de ~423 kb, hétérozygote, de novo, confirmée par FISH. Cette microdélétion emporte les exons 5 à 17 du gène de la Neurexine-1 (NRXN1) +/- 17 kb d'incertitude en amont incluant l'exon 18. Cette microdélétion intragénique affecte la formation des isoformes alpha et béta de ce gène.
NRXN1 est un grand gène (1 114 032 pb), donnant des isoformes longues (alpha) et courtes (béta). La littérature rapporte 22 cas de délétions intragéniques de NRXN1, mais 6 seulement avec perte de la forme béta.
Ces délétions de NRXN1 sont décrites associées à des degrés variables à des troubles autistiques ou à une schizophrénie, en fonction de la taille et de la localisation de la délétion. Nous comparerons les phénotypes déjà décris avec celui de notre patient.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P291 - MISE EN EVIDENCE PAR HYBRIDATION GENOMIQUE COMPARATIVE D'UN NOUVEAU REARRANGEMENT COMPLEXE DU CHROMOSOME X CHEZ UNE ENFANT ATTEINTE DE PROTEINOSE ALVEOLAIRE PULMONAIRE : UNE INV DUP DEL XP ASSOCIEE A UNE DUPLICATION DE XQ27.3-QTER.

J AUGER (1), C BONNET (2), M BERI (1), E BERTHOLO-HOURIEZ (3), M VALDUGA (1), C SCHWEITZER (3), B LEHEUP (4), P JONVEAUX (5)

1. Laboratoire de Génétique, CHU Brabois, Nancy, France
2. Laboratoire de Génétique, CHU Brabois et EA 4368 Université de Lorraine, Nancy, France
3. Médecine Infantile 1, CHU Brabois, Nancy, France
4. Médecine Infantile 3 et Génétique clinique, CHU Brabois-EA 4368 Université de Lorraine, Nancy, France
5. Laboratoire de Génétique, CHU Brabois-EA 4368 Université de Lorraine, Nancy, France

Nous rapportons le cas d'une fille porteuse d'un réarrangement complexe de l'X et d'une protéinose alvéolaire pulmonaire.

La protéinose alvéolaire pulmonaire (PAP) est une pathologie rare caractérisée par une accumulation de lipoprotéines dans les espaces alvéolaires provoquant des épisodes de détresse respiratoire sévères. Les formes congénitales sont associées à des mutations du gène CSF2RA. Le gène CSF2RA est situé dans la région pseudoautosomique 1 (PAR1) des chromosomes X et Y.

La patiente est née au terme de 30 SA avec une taille de 37 cm (-1,5 DS). Une étude cytogénétique mettait en évidence une délétion partielle Xp et une duplication partielle Xq. La croissance initiale maintient la taille à -2 DS, très probablement du fait de la monosomie de la région PAR 1 avec haploinsuffisance de SHOX.

L'évolution clinique est marquée par une altération de la fonction respiratoire vers l'âge de 2 ans. Le diagnostic de protéinose alvéolaire pulmonaire est alors porté.

L'étude par hybridation génomique comparative en microréseau (CGHa) a permis de préciser le remaniement et de mettre en évidence une délétion terminale Xp22.2-Xpter incluant la région PAR 1. S'y associent une amplification partielle Xp22.2p21.3 ainsi qu'une amplification terminale Xq27.3qter.

L'étude complémentaire par PCR quantitative en temps réel a montré une délétion homozygote du gène CSF2RA. Le chromosome X homologue présente également une délétion de ce locus. Cette délétion est retrouvée sur le prélèvement maternel démontrant la transmission.

L'Hybridation in situ en immunofluorescence (FISH) de BAC choisis dans les régions remaniées confirme la délétion et la duplication inversée sur Xp (inv dup del) et la duplication de Xq27.3-qter. Il a pu être montré que la région dupliquée Xq27.3qter se positionne en Xpter.

L'absence des symptômes habituels dus à une amplification partielle Xp22 (retard mental, hypotonie et dysmorphie faciale) et Xq28 (phénotype Rett) s'explique par l'existence d'un profil d'inactivation de l'X totalement biaisé (100-0 %).

Ces résultats suggèrent la survenue de deux évènements distincts sur le chromosome X anormal: un mécanisme inv dup del concernant le bras court de l'X et un deuxième évènement conduisant à la duplication de Xqter et repositionnement sur Xpter possiblement lié à une inversion péricentrique du chromosome X paternel pendant la méiose.

Une délétion duplication inversée Xp22.3-Xpter a été rapportée par Dupont en 2007 avec des points de cassure différents de ceux de notre cas. Une duplication Xq27.3-qter associée à une délétion Xp22.31-pter a été également rapportée par Kokalj-Vokak en 2004.

La protéinose alvéolaire pulmonaire présentée par la patiente est donc expliquée par l'association d'un remaniement complexe de l'X d'origine paternelle et la transmission d'une délétion du gène CSF2RA pour laquelle la mère est hétérozygote. Cette association rare n'avait pas été anticipée lors de la découverte initiale du remaniement en post-natal.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P292 - SYNDROME DE GOLDENHAR AVEC ATRESIE DE L'ŒSOPHAGE ET DELETION 17Q21.31 : UNE ASSOCIATION FORTUITE ?

C Decaestecker (1), J Andrieux (2), S Mehta (3), I Simonic (3), B Delobel (4), S Manouvrier-Hanu (1), M Holder-Espinasse (5)

1. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU, Lille, France
2. Plateforme de Génomique, Centre de Biologie Pathologie, CHRU, Lille, France
3. East Anglian Medical Genetics Service, Addenbrookes Hospital, Hills Road, Cambridge, Royaume-Uni
4. Laboratoire de génétique chromosomique, Hôpital Saint Vincent de Paul, Lille, France
5. Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU, Lille, France

Le syndrome de Goldenhar (SG) correspond à une association de signes cliniques dont le déterminisme génétique n'est pas connu à l'heure actuelle. Nous rapportons deux cas de SG présentant une atrésie de l'œsophage, pour lesquels l'analyse pangénomique en CGH-array 44K a mis en évidence une délétion identique en 17q21.31, survenue de novo et comprenant 3 gènes : CCDC 103, GFAP et EFTUD 2. Des mutations « gain de fonction » du gène GFAP ont été identifiées comme responsables du syndrome d'Alexander dont l'expression phénotypique diffère du SG. Le rôle des 2 autres gènes n'est pas connu à ce jour. D'après les bases de données, ils sont exprimés préférentiellement dans le développement de la sphère orale pour EFTUD 2 et de la trachée pour CCDC 103. Nous avons recherché la délétion 17q21.31 et effectué un séquençage de ces 3 gènes candidats dans une série de 19 patients présentant un SG dans le but de déterminer s'il existe un lien entre une anomalie de l'un de ces 3 gènes et le phénotype clinique observé. Aucune anomalie n'a été mise en évidence chez ces 19 patients, mais il serait intéressant de poursuivre ces analyses sur une série plus importante. Néanmoins, compte tenu du fait qu'il existe une hétérogénéité génétique certaine du SG, la délétion 17q21.31 pourrait correspondre à une forme particulière de SG associée à une atrésie de l'œsophage.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P293 - DISSECTION DES SYNDROMES MARFANOIDES AVEC RETARD MENTAL A PARTIR D'UNE COHORTE NATIONALE DE 100 PATIENTS

P Callier (1), S Lambert (2), H Dindy (3), B Aral (4), C Ragon (1), M Payet (1), G Collod-Beroud (5), C Binquet (6), Y Dulac (7), E Gautier (6), S Julia (8), Y Sznajer (9), N Hanna (3), MA Delrue (10), C Goizet (10), D Lacombe (10), T Busa (11), N Philip (11), I Missotte (12), A Toutain (13), A Megarbane (14), P Sarda (15), S Lyonnet (16), J Amiel (16), V Cormier-Daire (16), C Francannet (17), B Gilbert (18), A Jacquette (19), P Collignon (11), F Morice-Picard (10), PS Jouk (20), V Cusin (21), C Thauvin (22), J Thevenon (22), S Odent (23), L Pasquier (23), G Plessis (24), A Goldenberg (25), M Doco-Fenzy (26), D Martin-Coignard (27), R Touraine (28), B Leheup (29), C Baumann (30), D Bonneau (31), H Journel (32), P Khau Van Kien (33), MC Addor (34), C Coubes (15), K Amaroff (35), A Sarazin (35), M Willems (16), G Jondeau (36), C Boileau (3), L Faivre (22)

1. Cytogénétique, CHU Dijon, Dijon, France
2. Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon, Dijon, France
3. Biologie moléculaire, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France
4. Biologie moléculaire, CHU Dijon, Dijon, France
5. U827, INSERM, Montpellier, France
6. CIC-EC, CHU Dijon, Dijon, France
7. Cardiologie, CHU Toulouse, Toulouse, France
8. Génétique, CHU Toulouse, Toulouse, France
9. Génétique, Hôpital Erasme-ULB, Bruxelles, Belgique
10. Génétique, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
11. Génétique, Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
12. Génétique, Centre Hospitalier Territorial, Nouméa, France
13. Génétique, CHU Tours, Tours, France
14. Génétique, Université Saint Joseph, Beirut, Liban
15. Génétique, CHU Montpellier, Montpellier, France
16. Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
17. Génétique, CHU Clermont Ferrand, Clermond-Ferrand, France
18. Génétique, CHU Poitiers, Poitiers, France
19. Génétique, Hôpital Pitié Salpétrière, Paris, France
20. Génétique, CHU Grenoblme, Grenoble, France
21. Centre de référence maladie de Marfan, Hôpital Bichat, Paris, France
22. Génétique, CHU Dijon, Dijon, France
23. Génétique, CHU Rennes, Rennes, France
24. Génétique, CHU Caen, Caen, France
25. Génétique, CHU Rouen, Rouen, France
26. Génétique, CHU Reims, Reims, France
27. Génétique, CH Le Mans, Le Mans, France
28. Génétique, CHU St Etienne, St Etienne, France
29. Génétique, CHU Nancy, Nancy, France
30. Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
31. Génétique, CHU Angers, Angers, France
32. Génétique, CH Vannes, Vannes, France
33. Biologie moléculaire, CHU Montpellier, Montpellier, France
34. Génétique, Centre Hospitalier Vaudois, Lausanne, Suisse
35. Génétique, Les Antilles, Les Antilles, France
36. Centre de Référence Syndrome de Marfan et apparentés, Hôpital Bichat, Paris, France

Le terme de "habitus marfanoide" est employé pour décrire les patients présentant des signes squelettiques évoquant un syndrome de Marfan mais ne remplissant pas les critères diagnostiques. L'association habitus marfanoide et déficience intellectuelle a été rapportée dans la littérature, en particulier dans le syndrome de Lujan-Fryns (LJS) lorsqu'il n'existe pas d'autres signes associés, et dans le syndrome de Shprintzen-Goldberg (SGS) en cas d'association à une craniosténose ou une dysmorphie faciale caractéristique. Des mutations au sein des gènes ZDHHC9, UPF3B and MED12, tous 3 situés sur le chromosome X, ont été rapportés dans un très petit nombre de familles avec un diagnostic de LJS et des mutations de novo des gènes FBN1 et TGFBR2 ont été décrits dans de rares observations de SGS. Enfin, des anomalies chromosomiques ont été décrites dans quelques observations. L'implication de chaque gène

dans ces phénotypes n'est pas connue, rendant le conseil génétique difficile, en particulier pour les cas sporadiques. 100 patients (74 hommes, 26 femmes) ont été recrutés par le réseau des centres de références maladies rares. Une puce CGH-array 244K enrichie au niveau des genes d'intérêt a été réalisée chez tous les patients, de même que le séquençage des gènes MED12, ZDHHC9, UPF3B, FBN1, TGFBR1, et TGFBR2, et une étude d'inactivation du chromosome X chez les femmes. Dans la population de 75 patients avec déficience intellectuelle et habitus marfanoïde isolé, un réarrangement chromosomique de novo a été retrouvé chez 11 patients, incluant 3 réarrangements qui ont déjà été décrits en association avec ce phénotype (délétion 3q29, délétion 5p15 et duplication 16p11.2); une mutation de novo de FBN1 a été retrouvée chez 1 patient; une inactivation biaisée du chromosome X a été retrouvée chez 1 tiers des femmes. Dans la population de 22 patients avec un signe cardiaque ou ophtalmologique du spectre du syndrome de Marfan, un réarrangement chromosomique de novo a été retrouvé chez 4 patients, comprenant une délétion 15q21.1q21.3 de 10 Mb incluant FBN1, et 4 mutations FBN1. De façon intéressante, 2 patients porteurs de réarrangements chromosomiques sont aussi porteurs d'une mutation FBN1, montrant que le réarrangement chromosomique n'est pas toujours la cause de l'habitus marfanoïde. Aucune anomalie n'a été retrouvée chez les 3 patients présentant un SGS. En conclusion, nous avons identifié une anomalie cytogénétique ou moléculaire dans 17% des patients. Nous avons démontré que les gènes MED12, ZDHHC9, UPF3B ne sont pas des gènes majeurs pour ces phénotypes, et que les microréarrangements chromosomiques sont les anomalies les plus fréquemment rencontrées. Enfin, le recherche de complications aortiques est indispensable même lorsqu'un habitus marfanoïde est associé à une déficience intellectuelle, puisque nous avons retrouvé des mutations FBN1 dans 5% de la cohorte globale.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P294 - LE SYNDROME MICRODELETIONNEL 1Q43Q44 : UNE NOUVELLE FORME DE MICROCEPHALIE PRIMITIVE ?

C POIRSIER (1), M GERARD (2), C BAUMANN (2), L PERRIN (2), Y CAPRI (2), P EDERY (3), S DRUNAT (1), A ABOURRAT (2), A VERLOES (2), S PASSEMART (4)

1. Département de Génétique; Université Paris Diderot, Hôpital Robert Debré; Paris 7, PARIS, France
2. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, PARIS, France
3. Département de Génétique, Hospices civiles de Lyon, LYON, France
4. Département de Génétique et Service de Neuropédiatrie, Uniter inserm U676; Université Paris Diderot;, Hôpital Robert Debré; Paris 7, PARIS, France

La microcéphalie primitive est une affection génétique rare qui se traduit par une réduction du volume cérébral, visible en anténatal, responsable d'une déficience intellectuelle chez les patients. Dans les formes de transmission autosomique récessive (MCPH), des mutations dans 7 gènes ont été rapportées : MCPH1, WDR62, CDK5RAP2, CEP152, ASPM, CENPJ et STIL, mais ce cas de figure n'est pas le plus fréquent dans nos populations caucasiennes. Les microcéphalies primitives de novo y sont en effet plus fréquentes, notamment celles associées aux syndromes microdélétionnels. Actuellement une quinzaine de syndromes microdélétionnels responsables de microcéphalie primitive, ont été décrits. Nous nous sommes intéressés particulièrement à celle causées par les délétions 1q.

Méthode : Nous avons repris la présentation neurologique, neuroradiologique et cognitive de 3 enfants atteints de microcéphalie primitive et d'une enfant atteinte de déficience intellectuelle sévère sans microcéphalie, ces 4 enfants étant tous porteurs d'une délétion interstitielle 1q43q44. Notre objectif était de comparer le phénotype clinique : 1) des 3 enfants microcéphales porteurs de la délétion à l'enfant normocéphale, 2) des enfants microcéphales porteurs d'une délétion 1q43q44 aux enfants atteints de MCPH.

Résultats :

Les 4 enfants porteurs d'une microdélétion interstitielle 1q43q44 ont comme phénotype commun une déficience intellectuelle sévère et une épilepsie. La patiente normocéphale, a une déficience intellectuelle plus sévère que les autres et une polydactylie post-axiale.

La microcéphalie des enfants microcéphales porteurs d'une délétion interstitielle 1q43q44 est présente dès la naissance (PCN

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P295 - UNE NOUVELLE CAUSE DE DILATATION AORTIQUE ISOLEE : TRIPLICATION DU GENE ELN.

M Holder-Espinasse (1), G Vaksmann (2), V Houfflin-Debarge (3), I Liebaers (4), C Pannequin (5), MC Malinge (6), S Manouvrier-Hanu (7), J Andrieux (8)

1. Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU, Lille, France
2. Cardiologie pédiatrique, foetale et congénitale, SELARL Intercard, Lille, France
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
4. Diagnostic Pré-Implantatoire, Center for Medical Genetics, UZBrussel, Bruxelles, Belgique
5. Service de Dermatologie, Hôpital Huriez, CHRU, Lille, France
6. Unité fonctionnelle de Génétique Moléculaire, Département de Biochimie et Génétique, Angers, France
7. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU, Lille, France
8. Plateforme de Génomique, Centre de Biologie Pathologie, CHRU, Lille, France

Nous rapportons une observation familiale de triplication 7q11.23, mise en évidence fortuitement, en association à une dilatation aortique de sévérité variable. Le cas index est une patiente porteuse d'une Sclérose Tubéreuse de Bourneville (STB), diagnostiquée à l'âge de 27 ans dans un contexte de tumeurs de Koenen, dans le cadre d'une première grossesse. L'étude en biologie moléculaire a permis de mettre en évidence une mutation hétérozygote du gène TSC1 survenue de novo. Le diagnostic prénatal avait mis en évidence une transmission de la mutation maternelle au fœtus, et la grossesse avait été poursuivie. L'enfant est maintenant âgé de 3 ans et présente une forme sévère de la maladie, responsable d'une épilepsie et d'un retard des acquisitions. Dans le cadre du bilan paraclinique, il avait été mis en évidence une dilatation aortique majeure asymptomatique chez notre patiente, mise sur le compte de l'involution d'un rhabdomyome, et une chirurgie avait été réalisée. Lors d'une seconde grossesse, obtenue après un diagnostic pré-implantatoire, une amniocentèse était proposée, confirmant le fait que le fœtus n'était pas atteint de STB et que le caryotype était normal. Cependant, une technique complémentaire d'analyse de type MLPA, effectuée au laboratoire de façon systématique dans le cadre du dépistage des syndromes microdélétionnels et microduplicationnels récurrents , avait permis la mise en évidence, chez le fœtus, d'une triplication 7q11.23, impliquant le gène ELN et une partie du gène LIMK1. Ce résultat était confirmé par Q-PCR ainsi qu'en CGH-array (Agilent 44K, 200kb environ). L'enquête familiale a permis de retrouver cette triplication chez notre patiente, ainsi que chez son premier enfant, sa mère, une tante maternelle, et 2 de ses cousines. L'étude familiale se poursuit actuellement. Tous les individus porteurs de la triplication présentent une dilatation aortique de taille variable, asymptomatique. Les duplications en miroir de la région du syndrome de Williams-Beuren (WBS) ont été décrites pour la première fois en 2005, et, depuis, une trentaine de patients ont été rapportés dans la littérature. Une triplication 7q11.23 a été rapportée chez un seul patient présentant un retard mental, impliquant entre autre le gène ELN, mais pour lequel le phénotype cardiologique n'est pas précisé. Même si l'implication du gène ELN dans le phénotype vasculaire du WBS ne fait aucun doute, le rôle de facteurs modificateurs, de mécanismes épigénétiques et de l'origine parentale de la délétion pourrait être à l'origine des variations cliniques observées chez les patients. Les données semblent cependant moins claires lorsque le gène ELN est surexprimé. A notre connaissance, des triplications de la région 7q11.23 en association à une dilatation aortique isolée n'ont jamais été décrites et mériteraient d'être recherchées chez des patients porteurs d'une telle malformation vasculaire pour lesquels il n'y a pas de diagnostic étiologique évident.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P296 - DELETION 3P14.1P13: NOUVEAU SYNDROME MICRODELETIONNEL ASSOCIE AUX CONTRACTURES DISTALES DES ARTICULATIONS

J Thevenon (1), K Dieterich (2), P Callier (3), M Francoise (4), S Kjaergaard (5), TL Dahm (6), K Neas (7), M Splitt (8), F Huet (9), AL Mosca-Boidron (10), N Marle (10), A Masurel-Paulet (11), C Ragon (12), L Duplomb (13), MH Aubriot-Lorton (14), F Mugneret (12), N Monnier (15), J Lunardi (15), L Faivre (16), PS Jouk (2), C Thauvin-Robinet (17)

1. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France
2. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs» du Centre Est, CHU de Grenoble, Grenoble, France
3. Cytogénétique, CHU Dijon, Dijon, France
4. Pédiatrie, CH William Morey, Chalon-Sur-Saone, France
5. Department of Clinical Genetic, University Hospital Rigshospitalet, Copenhagens, Danemark
6. Department of Pediatrics, Hillerød Hospital, Hillerød, Danemark
7. Central and Southern Regional Genetic Services, Wellington Hospital Private, Wellington South, Nouvelle zelande
8. Department of Clinical Genetics, Guy's Hospital, London, Royaume-Uni
9. Service de Pédiatrie 1, CHU de Dijon, Dijon, France
10. Cytogénétique, CHU Dijon, Dijon, France
11. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, France
12. Cytogénétique, CHU de Dijon, Dijon, France
13. 10 Equipe émergente GAD « Génétique et Anomalies du Développement », IFR Santé STIC, Université de Bourgogne, Dijon, France
14. Laboratoire d'Anatomopathologie, Plateau Technique de Biologie, CHU de Dijon, Dijon, France
15. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Grenoble, Grenoble, France
16. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», , Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, dijon, France
17. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, CHU de Dijon, Dijon, France

Les contractures distales des articulations sont un groupe hétérogène de pathologies sur le plan clinique et génétique. Des mutations dans 6 gènes de l'appareil contractile musculaire ont jusque là été identifiées, rendant compte d'environ 20% des diagnostics cliniques. Des anomalies chromosomiques ont été rapportées en association à des contractures distales comme la trisomie 18, les microduplications 17q25.3 et 6q24.2q25.3. Quelques patients présentant des contractures distales ont également été rapportés avec des réarrangements du locus 3p14.1p13 souvent dépistés en cytogénétique conventionnelle.

Nous rapportons 4 patients avec des contractures distales des articulations associées à des microdélétions de novo du locus 3p14.1p13. La présentation clinique des patients semblait homogène avec des contractures distales multiples, des difficultés alimentaires, et un retard psychomoteur/déficience intellectuelle. La dysmorphie faciale était constante, retrouvant des oreilles basses implantées en rotation postérieure et un blepharophimosis. A l'aide de 2 cas de la littérature et des localisations chromosomiques des délétions diagnostiquées, nous avons pu définir la plus petite région partagée par tous les patients avec des contractures distales. Cette région de 250kb ne contenait que le gène EIF4E3 et les 2 premiers exons du gène FOXP1. Le séquençage direct des régions exoniques et des jonctions exon-intron ainsi que la quantification des exons du gène EIF4E3 est apparu normal dans une cohorte de 13 patients atteints de contractures distales congénitales isolée ou syndromique.

En conclusion, nous décrivons un nouveau syndrome microdélétionnel du locus 3p14.1p13 associé à des contractures distales, une dysmorphie faciale et un retard psychomoteur. La plus petite région chevauchante partagée par les patients contient le gène EIF4E3 et les 2 premiers exons du gène FOXP1. L'extension des recherches moléculaires sur ce locus au sein d'une plus large cohorte de patients permettra de déterminer son implication dans les contractures distales articulaires.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P297 - AUTISM MULTIPLEX FAMILY WITH 16P11.2P12.2 MICRODUPLICATION SYNDROME IN MONOZYGOTIC TWINS AND DISTAL 16P11.2 DELETION IN THEIR BROTHER

AC Tabet (1), M Pilorge (2), R Delorme (3), F Amsellem (3), JM Pinard (4), M Leboyer (5), A Verloes (6), B Benzacken (1), C Betancur (2)

1. Cytogenetics Unit, Department of Genetics, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. Inserm U952, CNRS UMR 7224, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
3. Department of Child and Adolescent Psychiatry, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. Pediatric Neurology Unit, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France
5. Department of Psychiatry, Hôpital Henri Mondor-Albert Chenevier, Créteil, France
6. Clinical Unit, Department of Genetics, Hôpital Robert Debré, Paris, France

The pericentromeric region of chromosome 16p is rich in segmental duplications that predispose to rearrangements through non-allelic homologous recombination. Several recurrent copy number variations have been described recently in chromosome 16p. 16p11.2 rearrangements (29.5-30.1 Mb) are associated with autism, intellectual disability and other neurodevelopmental disorders. Another recognizable but less common microdeletion syndrome in 16p11.2p12.2 (21.4 to 28.5-30.1 Mb) has been described in six individuals with intellectual disability, while apparently reciprocal duplications, studied by standard cytogenetic and FISH techniques, have been reported in three patients with autism spectrum disorders. Here we report a multiplex family with three boys affected with autism, including two monozygotic twins carrying a de novo 16p11.2p12.2 duplication of 8.95 Mb (21.28-30.23 Mb) characterized by SNP array, encompassing both the 16p11.2 and 16p11.2p12.2 regions. The twins exhibited autism, severe intellectual disability, and dysmorphic features, including a triangular face, deep-set eyes, large and prominent nasal bridge, and tall, slender build. The eldest brother presented with autism, mild intellectual disability, early onset obesity and normal craniofacial features, and carried a smaller, overlapping 16p11.2 microdeletion of 847 kb (28.40-29.25 Mb), inherited from his apparently healthy father. Recurrent deletions in this region encompassing the SH2B1 gene were recently reported in early onset obesity and in individuals with neurodevelopmental disorders, associated with phenotypic variability. We discuss the clinical and genetic implications of two different 16p chromosomal rearrangements in this family. In addition, we propose a chromosomal mechanism suggesting that the distal 16p11.2 deletion in the father, together with the genomic architecture of the region, could have facilitated the duplication in his twin children.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P298 - CARACTERISATION CLINIQUE ET MOLECULAIRE DE 2 DUPLICATIONS 4PTER INCLUANT LA REGION CRITIQUE DU SYNDROME DE WOLF-HIRSCHHORN : A PROPOS DE 3 CAS

A DESTREE (1), B GRISART (1), M CRESPIN (1), B PARMENTIER (1), I MAYSTADT (1)

1. Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Charleroi (Gosselies), Belgique

Les duplications terminales des bras courts du chromosome 4 sont classiquement caractérisées par une déficience intellectuelle sévère, une hypertonie musculaire, un retard de croissance pré- et postnatal et une dysmorphie faciale.. Plus de 75 patients présentant une trisomie 4p visible au caryotype standard ont déjà été rapportés dans la littérature. Récemment, 3 patients présentant une microduplication détectée par CGH array impliquant la région critique du syndrome de Wolf-Hirschhorn ont été rapportés. Ces patients présentaient un retard de développement plus particulièrement marqué dans la sphère du langage et une dysmorphie faciale incluant un hypertélorisme. Nous rapportons ici 2 observations de duplications 4p d'environ 10 Mb dont l'une est pure tandis que l'autre est associée à une délétion terminale 8p. Toutes deux comprennent de nombreux gènes dont WHSC1, LETM1 et FGFR3. La duplication 4p pure a été identifiée par caryotype conventionnel et caractérisée par FISH et CGH array chez un frère de 2 ans et une sœur de 4 ans. Leur mère est porteuse d'une insertion de la région 4p terminale au sein des bras courts d'un chromosome 22 avec caryotype 46,XX, ins(22;4)(p13;p16.1p16.3). Ces 2 enfants présentent une grande taille, une dysmorphie faciale, des doigts et orteils larges et un retard de développement portant principalement sur le langage, sans franche déficience intellectuelle. Le troisième cas est une fillette de 3 ans porteuse d'un chromosome 8 dérivé d'une translocation t(4;8)(p16.1;p23.1). Ce remaniement, qui est connu pour être récurrent, est survenu de novo. La monosomie 8p de 6.5Mb a été identifiée par CGH array au même titre que la trisomie 4p. A ce jour, 50 cas de délétion 8p23.1 ont été rapportés dans la littérature. Le phénotype clinique associé comprend un retard de croissance, une déficience intellectuelle, des troubles psychiques, une dysmorphie faciale non spécifique et des anomalies cardiaques. L'association de la monosomie 8p23.1 à la trisomie 4p16 pourrait aggraver le phénotype de cette dernière patiente mais à ce jour, elle présente une symptomatologie semblable à celle des 2 patients porteurs de la trisomie 4p16 pure, à savoir un retard modéré d'acquisition du langage, une dysmorphie faciale mineure avec hypertélorisme et une grande taille. La délétion des gènes WHSC1 et LETM1 sont les principaux gènes candidats de la symptomatologie du syndrome de Wolf-Hirschhorn. Les conséquences phénotypiques de la duplication de ces gènes ne sont pas encore connues. De plus la duplication de la région 4p16 incluant le gène FGFR3 a été rapportée comme étant responsable d'un syndrome de grande taille avec un possible effet de dosage de ce gène. Ceci n'est toutefois pas confirmé par d'autres études. Une meilleure caractérisation clinique et moléculaire des patients porteurs d'une duplication 4p16 permettra certainement dans l'avenir de préciser les corrélations dans la trisomie 4p.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P299 - CAS D'UNE DELETION DE NOVO DE 9MB AU SEIN D'UNE INVERSION PARACENTRIQUE EN 2Q HERITEE RESPONSABLE D'UN RETARD DU DEVELOPPEMENT SEVERE ET DE MALFORMATIONS PALPEBRALES

J BOULIGAND (1), A BRIAND-SULEAU (2), M GOOSSENS (3), A GUIOCHON-MANTEL (1), C METAY (4), V ORTONNE (5), MF PORTNOI (6), B TOU (1), L VAN MALDERGEM (7), W VERBECQ-MORLOT (8)

1. Service de génétique moléculaire, pharmacologie et hormonologie, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
2. Service de Biochimie-Génétique, Plateforme de Génétique Constitutionnelle, Hopital Henri Mondor, Créteil, France
3. Service de Biochimie-Génétique, Hôpital H. Mondor, Créteil, France
4. Service de Biochimie-Génétique, Plateforme de Génétique Constitutionnelle, Hopital Henri Mondor, Creteil, France
5. Service de Biochimie-Génétique, Plateforme de Génétique Constitutionnelle, Hôpital H. Mondor, Créteil, France
6. Service de génétique et embryologie médicales, Hôpital A. Trousseau, Paris, France
7. UF de génétique clinique, Centre Hospitalier Intercommunal, Créteil, France
8. Inserm U955, Université Paris 12-Créteil, Créteil, France

La patiente est une petite fille adressée initialement à 14 mois pour retard de développement et hypotonie. A l'examen clinique elle présente également un ptosis et un blepharophimosis associés à des malformations des orteils. Son caryotype montre une inversion paracentrique sur le bras long du chromosome 2, apparemment équilibrée (46, XX, inv(2)(q21q37)) et héritée de son père sain comme confirmé par FISH. En complément, une analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) Agilent 105k a mis en évidence une délétion de 9Mb (2q31.1q31.3) au sein de la région inversée chez l'enfant. En revanche, aucune anomalie n'a été détectée par l'ACPA chez le père portant la même inversion. Le caractère de novo de la microdélétion a été confirmée par FISH et par qPCR.

La survenue secondaire d'un réarrangement interstitiel au sein d'un segment déjà inversé est un évènement rare qui ne peut s'expliquer de façon simple par un mécanisme de recombinaison homologue non allélique (NAHR). L'ACPA en complément du caryotype en cas de phénotype anormal avec anomalies chromosomiques en apparence équilibrées révèle dans certains cas l'existence de réarrangements cryptiques aux points de cassure ou régions avoisinnantes. Cependant, dans le cas présenté ici, la délétion est survenue à distance des points de cassure, suggérant qu'un autre mécanisme est en cause. Dans la mesure où plusieurs cas de patients avec malformations palpébrales et anomalies chromosomiques comparables dans la même région ont été rapportés dans la littérature (Dimitrov et al., 2010), il semble intéressant de suivre l'évolution de notre jeune patiente afin d'effectuer une corrélation génotype/phénotype plus précise. Plus de 50 gènes sont compris dans l'interval délété, parmi lesquels le cluster de gènes HOX connu comme responsable de malformations des membres, et probablement au moins un autre gène responsable des anomalies palpébrales, CHN1 semblant être un bon candidat.

Outre la rareté du phénomène de délétion au sein de l'inversion survenu chez notre patiente, son phénotype renforce l'idée d'un syndrome microdélétionnel 2q31 associant un retard de développement à des malformations des paupières et des membres, autre que le syndrome microdeletionnel BPES bien connu en 3q23.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P300 - MALSEGREGATION PATERNELLE D'UNE TRANSLOCATION T(11;13)(Q25;Q14) CHEZ DEUX PATIENTS PRESENTANT UNE DEFICIENCE INTELLECTUELLE

PATERNAL MALSEGREGATION OF A TRANSLOCATION T(11;13)(Q25;Q14) IN TWO PATIENTS WITH INTELLECTUAL DISABILITY

C METAY (1), L LECERF (2), L TOSCA (3), A BRIAND-SULEAU (4), V DELATTRE (5), V ORTONNE (5), S SERERO (6), P KLEINFINGER (7), I GIURGEA (8), M GOOSSENS (4), D AMRAM (9)

1. Service de Biochimie-Génétique, Plateforme de Génomique Constitutionnelle, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
2. INSERM U955, Plateforme de Génétique Constitutionnelle, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
3. Laboratoire d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
4. Service de Biochimie-Génétique et INSERM U955, Plateforme de Génétique Constitutionnelle, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
5. Service de Biochimie-Génétique, Plateforme de Génétique Constitutionnelle, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
6. Laboratoire de Biologie et de Cytogenetique, Centre de Biologie et de Cytogenetique Medicales, Evreux, France
7. Laboratoire de cytogénétique, Laboratoire Cerba, Cergy Pontoise, France
8. Service de Biochimie-Génétique et INSERM U955, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
9. Service de Pédiatrie-Réanimation Néonatale, Centre Hospitalier InterCommunal, Créteil, France

Nous rapportons le cas de deux frères présentant une déficience intellectuelle et une malségrégation d'une translocation réciproque équilibrée paternelle t(11;13)(q25;q14). Le premier frère (patient 1) présente un retard psychomoteur modéré, une légère dysmorphie faciale et un déficit immunitaire. L'examen de son frère (patient 2) montre un retard psychomoteur sévère, une microcéphalie, une dysmorphie faciale (malformations du crâne, épicanthus, nez court, philtrum bombé, petites oreilles, oreilles basses), une cryptorchidie et une malformation cardiaque.

Chez le patient 1, le caryotype puis l'analyse chromosomique sur puce à ADN Agilent 105K ont détecté la présence de deux trisomies partielles, (1) localisée au niveau de la région 11q25qter de taille 780Kb et (2) en 13q11q14.2 de 28Mb. Le patient 2 est porteur d'une monosomie partielle localisée en 11q24 et une trisomie partielle en 13q13.

Chez le patient 1, les trisomies partielles situées au niveau des régions 11q et 13q sont issues d'une ségrégation de type alterne de la translocation paternelle suivie d'une duplication du dérivé du chromosome 13. Chez le patient 2, la trisomie partielle localisée en 13q et la monosomie partielle en 11q résultent d'une ségrégation adjacente de type 1 lors de la méïose paternelle. Il est plutôt rare d'observer ces deux types combinés de ségrégations au sein d'une même famille.

Ces deux frères présentent des caractéristiques cliniques de types et d'intensités différentes. La monosomie 11qter décrite associée au syndrome de Jacobsen semble en partie impliquée dans le développement du phénotype plus sévère du patient 2. Afin de mieux définir les bornes de la duplication localisée en 13q13 et les gènes susceptibles d'être perturbés par cette anomalie, une analyse chromosomique sur puce à ADN s'avère nécessaire pour ce même patient. Les caractéristiques cliniques du patient 1 seront discutées en rapport avec les anomalies cytogénétiques, les gènes inclus dans les duplications et ceux localisés au niveau des points de cassures. Parmi ceux-ci, le gène HTR2A située au point de cassure en 13q14 suscite particulièrement l'intérêt puisqu'il appartient au système sérotoninergique impliqué dans différents désordres psychologiques (MIM *182135) et dans les processus de mémoire et d'apprentissage (Akabame K. et al, Psych res 2003, Schott B.H. et al, PLoS one 2011).

Ces résultats montrent la place essentielle de l'analyse chromosomique sur puce à ADN chez des patients dont un des parents est porteur d'une translocation chromosomique réciproque équilibrée.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P301 - MOUVEMENTS ANORMAUX ET MICRODELETION 22Q11: ASSOCIATION FORTUITE OU CAUSALITE ?
MOVEMENT DISORDER AND DELETION 22Q11, INCIDENTAL ASSOCIATION ?

A Jacquette (1), K Nguyen (2), S Whalen (1), T Lenglet (3), B Degos (3), D Grabli (3), A Eusebio (4), JP Azoulay (4), N Philip (2), D Héron (1), M Vidailhet (3), P Charles (5)

1. Département de génétique, centre de référence des déficiences intellectuelles, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France
2. Département de génétique médicale, Hôpital de La Timone, Marseille, France
3. Fédération des Maladies du Système Nerveux, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France
4. Service de neurologie et pathologie du mouvement, Hôpital de La Timone, Marseille, France
5. Département de Génétique, cytogénétique et Embryologie, centre de référence Maladie de Huntington, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France

La délétion 22q11, affection génétique rare (prévalence 1/4000) décrite pour la première fois en 1965, représente le syndrome microdélétionnel le plus fréquent chez l'homme. Le phénotype clinique associe de façon variable une dysmorphie faciale, une cardiopathie conotroncale, une hypoplasie thymique, une hypocalcémie par hypoplasie des parathyroides et une déficience intellectuelle ou une atteinte sous-corticale à type de syndrome dysexécutif.
Des troubles psychiatriques de type psychotique ont été décrits dans l'évolution chez 10% des patients. Trois cas de syndrome parkinsonien en l'absence de tout traitement neuroleptique ont été rapportés dans la littérature mais il n'y a pas eu de description de mouvements anormaux d'un autre type à ce jour.

Nous rapportons les cas de 5 patients adressés en neurologie pour des mouvements anormaux et où la présence d'une dysmorphie faciale caractéristique a permis de poser le diagnostic de délétion 22q11 pour 4 d'entre eux, une patiente avait déjà un diagnostic de délétion 22q11 porté sur la présence d'une malformation cardiaque précoce.
3 patients présentaient un syndrome extrapyramidal sévère, de début précoce (35-38 ans), asymétrique, L-Dopa sensible avec une dénervation dopaminergique sévère bilatérale au DAT Scan. Le bilan à la recherche d'une forme génétique de maladie de Parkinson était négatif.
2 patients présentaient un tremblement myoclonique des membres supérieurs pour l'un, de l'hémicorps gauche associé à une dystonie pour l'autre. L'enregistrement du tremblement était discordant en faveur d'une origine corticale pour un cas et sous-corticale pour l'autre. L'analyse des neurotransmetteurs du LCR réalisée dans un cas était normale.
Tous présentaient une déficience intellectuelle de degré variable ou un syndrome dysexécutif. Un patient avait présenté des troubles psychotiques, un autre une crise d'épilepsie généralisée tonico-clonique.
Les mécanismes physiopathologiques et les voies de signalisation impliqués ne sont pas connus à ce jour, le polymorphisme du gène de la COMT déjà rapporté pour son influence sur l'atteinte dysexécutive sous-cortico-frontale pourrait être un des candidats.

Les patients porteurs d'une délétion 22q11 doivent bénéficier d'un suivi neurologique au long cours à la recherche de mouvements anormaux.
Devant un syndrome parkinsonien ou un mouvement anormal précoce, la présence d'une déficience intellectuelle et/ou d'une dysmorphie doit faire rechercher une délétion 22q11.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P302 - SYNDROME D'ANGELMAN ET SUSCEPTIBILITE AUX TRAITEMENTS NEUROLEPTIQUES

NEUROLEPTIC SUSCEPTIBILITY IN ANGELMAN SYNDROME.

P Charles (1), A Jacquette (2), A Afenjar (3), D Héron (2)

1. Département de Génétique, cytogénétique et Embryologie, centre de référence Maladie de Huntington, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France
2. Département de génétique, centre de référence des déficiences intellectuelles, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France
3. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris, France

Deux patients suivis pour un syndrome d'Angelman confirmé par l'analyse moléculaire génétique avec microdélétion 15q11 (gène UBE3A), ont présenté un syndrome extra pyramidal sévère secondaire à la prise d'un traitement neuroleptique.
Le premier patient âgé de 4 ans a reçu du Propériciazine (Neuleptil) pour des troubles du sommeil à la dose de 1,75 mg puis 6 mg par jour. Un syndrome extra pyramidal akinéto rigide sévère, perturbant les acquisitions motrices est apparu suite à l'augmentation de la posologie.
Le second patient âgé de 30 ans a été traité par Halopéridol 0,5 mg par jour (Haldol) pour un syndrome anxiodépressif. Des signes extrapyramidaux sévères axiaux et des membres avec en particulier une marche parkinsonienne avec enrayage cinétique sont apparus quelques semaines après l'introduction du traitement.
Les symptômes ont régressé quelques semaines après l'arrêt du traitement, remplacé par de la mélatonine chez le premier patient et un neuroleptique atypique chez le deuxième.
Deux autres cas, en cours d'étude, ont été rapportés chez des patients institutionnalisés ayant reçu des doses importantes de neuroleptiques. Il pourrait s'agir dans ces deux derniers cas d'un effet lié à l'imprégnation neuroleptique et vraisemblablement à la dose contrairement aux deux premiers cas de syndrome extra pyramidal précoce non lié à la posologie.
Cet effet commun à tous les neuroleptiques classiques antagonistes des récepteurs dopaminergiques D2 est bien connu chez les patients traités au long cours mais la particularité chez les patients présentant un syndrome d'Angelman est sa survenue précoce et pour de faibles doses suggérant une sensibilité particulière à ces traitements dans cette population.
Ces observations sont à rapprocher de la description de deux cas de patients adultes jeunes porteurs d'un syndrome d'Angelman qui ont développé un syndrome parkinsonien dopa sensible (Harbord, 2001), et de la description récente d'un modèle de souris avec délétion du gène Ube3a d'origine maternelle qui développent des troubles moteurs et chez lesquelles le nombre de neurones tyrosine hydroxylase positifs de la substance noire est significativement réduit par rapport aux souris sauvages confirmant l'implication de la voie nigro striée dans la pathologie (Mulherkar, 2010).

Les patients avec un syndrome d'Angelman présentent une susceptibilité particulière aux traitements neuroleptiques avec l'apparition de symptômes extra pyramidaux sévères et précoces. Ces symptômes sont réversibles à l'arrêt du traitement.
Si une telle prescription est néanmoins nécessaire, nous recommandons l'utilisation de neuroleptiques atypiques dont la pharmacocinétique est différente (Profil de liaison à d'autres récepteurs dopaminergiques D3 ou D4).

Ces résultats pourraient améliorer la compréhension des mécanismes physiopathologiques et des voies de signalisation impliquées dans le syndrome d'Angelman et ouvrir de nouvelles perspectives thérapeutiques.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P303 - UN MARQUEUR CHROMOSOMIQUE SURNUMERAIRE PEUT EN CACHER UN AUTRE !

G EGEA (1), B DE FREMINVILLE (2), V ADOUARD (2), F PRIEUR (2), RL TOURAINE (2)
1. Service de Génétique clinique, chromosomique et moléculaire, CHU Saint Etienne, SAINT ETIENNE, France
2. Service de Génétique clinique, chromosomique et moléculaire, CHU SAINT ETIENNE, SAINT ETIENNE, France

Benjamin D., 3ème enfant d'une fratrie de 3, est suivi en génétique depuis la naissance en raison de plusieurs signes cliniques : une dysmorphie faciale (visage asymétrique, exophtalmie, microstomie, nuque épaisse et courte, palais étroit et ogival, mandibule gauche hypotrophique), doigts effilés, hypotonie axiale puis évolution vers une déficience intellectuelle légère. Actuellement, le patient âgé de 19 ans présente également une insuffisance aortique modérée et des anomalies ophtalmologiques (hypermétropie et strabisme). De plus, on note une tendance au surpoids (+0.5DS), un retard statural (-1.5DS) et un retard pubertaire (puberté en cours).

Le caryotype réalisé sur lymphocytes a révélé la présence de 2 marqueurs chromosomiques surnuméraire (MCS) dans 54% des cellules examinées et un seul MCS dans 46% des cellules. Le caryotype des parents est normal et comme leurs deux autres enfants, ils n'ont pas de problèmes particuliers.
Afin de caractériser au mieux l'anomalie chromosomique, une analyse chromosomique sur une puce oligonucléotide 180K a été réalisée. Cet examen a permis d'objectiver un gain homogène d'environ 7,4 Mb en 21q11.2q21.1 (de 13,600,227 à 20,965,114 ;Hg18), un gain en mosaïque en 8q11.1q11.21 d'environ 1,7Mb (de 47,062,622 à 49,291,931 ;Hg18) ; un gain en mosaïque (5 copies) en 3q29 d'environ 2Mb (de 197,325,232 à 199,329,651 ;Hg18).

Afin de confirmer les trisomies partielles 21q, 8q, 3q, une étude en FISH a été réalisée avec les sondes RP11-432D10, RP11-113H14 et RP11-15E10 hybridant respectivement en 3q29, 8q11.2 et 21q21.1. Par ailleurs, une sonde hybridant tous les centromères a été utilisée. Trois populations cellulaires ont été observées : i) un MCS(3) néocentromérique avec un MCS(8) dans 45% des cellules examinées, ii) un MCS(3) néocentromérique avec un MCS(8) dans 45% des cellules examinées, iii) ainsi qu'une troisième population cellulaire avec un MCS(21) et un MCS(8) dans 10% des cellules observées. Toutes ces anomalies sont survenues de novo.

Le patient présente donc un caryotype complexe en mosaïque impliquant 3 MCS (avec présence d'euchromatine) responsable d'une trisomie 3 partielle, d'une trisomie 8 partielle et d'une trisomie 21 également partielle. Il ne présente pas les signes morphologiques ou malformations habituelles dans la trisomie 21 (pas de région critique de la trisomie 21).

Au regard de la littérature, le phénotype de notre patient se rapprocherait des patients porteurs de la microduplication 3q29 (Lisi et al., 2008). Le MCS(21) pourrait également avoir un rôle dans le phénotype.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P304 - DUPLICATION DU GENE TUSC3 ASSOCIEE AU RETARD MENTAL A TRANSMISSION AUTOSOMIQUE RECESSIVE

C Pebrel-Richard (1), E Eymard-Pierre (1), S Kemeny (2), M Gay-Bellile (2), L Gouas (2), C Francannet (3), C Goumy (2), P Vago (2)

1. Cytogénétique Médicale, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
2. Cytogénétique Médicale/Fac Médecine, Histologie Cytologie Embryologie Cytogénétique, CHU Clermont-Ferrand/Univ Clermont 1, Clermont-Ferrand, France
3. Génétique Médicale, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

La prévalence du retard mental est estimée à 1 à 3% de la population générale. Si durant ces dix dernières années, de nombreux gènes ont été identifiés dans le retard mental lié à l'X (XLMR), en revanche, seuls quelques gènes ont été rattachés au retard mental non syndromique à transmission autosomique récessive (AR-RMNS), qui représenterait pourtant près de 25% des retards mentaux non syndromiques.
Jusqu'à ce jour, seuls 6 gènes ont été impliqués dans le AR-RMNS : PRSS12, CRBN, CC2D1A, GRIK2, TUSC3 et TRAPPC9.
Le gène TUSC3 est situé en 8p22. Il code pour une protéine de 348 acides aminés, sous-unité d'un complexe oligosaccharyltransférase (OST), qui semble jouer un rôle essentiel dans la N-glycosylation des protéines.
Les patients souffrant de CDG (Congenital Disorders of glycosylation) présentent classiquement un tableau complexe associant ataxie, épilepsie, rétinopathie, fibrose hépatique, coagulopathies, dysmorphie faciale et anomalie oculaire. En revanche, les patients porteurs de délétion en 8p22, n'emportant que le gène TUSC3 (Garshasbi et al., 2008 ; Khan et al., 2011), ou de mutations ponctuelles, à l'origine d'une perte de fonction de ce gène (Molinari et al., 2008 ; Garshasbi et al., 2011), présentent un retard mental non spécifique, associé de façon inconstante à une petite taille et une microcéphalie modérée.

Nous rapportons le cas d'un enfant de 5 ans présentant un retard mental associé à un retard de croissance et une microcéphalie, sans anomalie détectable au caryotype standard. La CGH-array 180K (AgilentÒ) a permis d'identifier une duplication d'environ 382 kb en 8p22 (chr8 : 15504740-15886909 - GRCh37/hg19), confirmée par QMF-PCR, impliquant uniquement le gène TUSC3. L'enquête familiale a permis de statuer sur le caractère hérité de cette duplication puisque la maman et la grand-mère maternelle, présentant également une petite taille, une microcéphalie et un retard des acquisitions sont aussi porteuses de ce remaniement.

Il s'agit du premier cas de duplication isolée du gène TUSC3 et du cinquième cas de retard mental associé à ce gène, rapporté dans la littérature. La duplication du gène TUSC3 semble être à l'origine d'un tableau clinique proche de celui rapporté en cas d'haploinsuffisance du gène par mutation entrainant une perte de fonction ou délétion. L'absence d'anomalie de glycosylation et l'existence d'un retard mental souvent isolé chez les patients porteurs d'une mutation ou d'une délétion du gène suggère son implication dans d'autres processus biologiques que la N-glycosylation post-traductionnelle. La protéine codée par TUSC3 pourrait notamment avoir une implication sur les capacités d'apprentissage et la mémoire à court et long terme, en modulant le transport du Mg2+ au niveau cérébral (Zhou and Clapham, 2009 ; Slutsky et al., 2010) ou en interragissant avec la protéine phosphatase 1 (PPPC1A) impliquée dans la plasticité neuronale (Munton et al., 2004 ; Genous et al., 2002).

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P305 - INTERRUPTION DU GENE COL2A1 DANS UNE FAMILLE PRESENTANT UN SYNDROME DE STICKLER ASSOCIE A UNE TRANSLOCATION APPAREMMENT EQUILIBREE T(12;15).

C DUPONT (1), N LE DU (2), C BAUMANN (3), E SCHAEFER (3), P MABBOUX (2), Y CAPRI (3), M JIMENEZ-POCQUET (1), F GUIMIOT (4), E SPAGGIARI (4), E PIPIRAS (5), A ABOURA (1), A DELAHAYE (5), B BENZACKEN (5), AC TABET (1)

1. Unité fonctionnelle de Cytogénétique-Département de génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP), Paris, France
2. Centre de biologie et de cytogénétique médicale, Centre de biologie et de cytogénétique médicale, Evreux, France
3. Service de Génétique clinique-Département de génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP), Paris, France
4. Service de Biologie du Développement, Hôpital Robert Debré (AP-HP)-Université Paris Diderot, Paris, France
5. Service d'Histologie Biologie de la Reproduction Cytogénétique CECOS, Hôpital Jean Verdier (AP-HP), Bondy, France

Le syndrome de Stickler est une maladie autosomique dominante caractérisée par des anomalies oculaires, orofaciales, osseuses et auditives. Son expression phénotypique est très variable et sa fréquence est estimée entre 1/7500 et 1/9000 nouveaux nés. Il existe à ce jour trois types de syndromes de Stickler. Certaines mutations hétérozygotes du gène COL2A1 sont impliquées dans le syndrome de Stickler de type I.

Nous rapportons le cas d'une mère et de sa fille, toutes les deux atteintes d'un syndrome de Stickler.

Un caryotype réalisé en anténatal pour diagnostic de fente palatine à l'échographie a mis en évidence une translocation apparemment équilibrée t(12;15)(q13;q22.2) chez le fœtus. Le remaniement chromosomique est hérité de la mère. L'examen néonatal de l'enfant a montré un syndrome de Pierre Robin associé à une myopie bilatérale. La mère, porteuse de la translocation t(12;15) et également d'une inversion péricentrique d'un chromosome 11 (inv(11)(p11.12q14.3)) présente une myopie sévère compliquée d'au moins un épisode de décollement rétinien à l'adolescence.

Une puce SNP (Illumina HumanCytoSNP12) a été réalisée chez l'enfant et n'a pas montré de déséquilibre, ni au niveau des points de cassure ni ailleurs sur le génome.

Compte tenu du tableau clinique évocateur d'un syndrome de Stickler d'une part et de la présence du gène COL2A1 en 12q13.11 (région chromosomique impliquée dans la translocation) une hybridation in situ a été réalisée chez la mère et l'enfant avec un BAC couvrant le gène COL2A1. Cette technique a mis en évidence l'interruption du gène COL2A1 par la translocation montrant un signal fluorescent à la fois sur le dérivé du chromosome 12 et sur le dérivé du chromosome 15.

Nous rapportons le premier cas d'anomalie chromosomique apparemment équilibrée héritée associée à un syndrome de Stickler familial très probablement lié à l'interruption du gène COL2A1. Le syndrome de Stickler de type I est essentiellement provoqué par des mutations perte de fonction de COL2A1. Une délétion hétérozygote emportant tout le gène a été également rapportée dans une famille. L'interruption du gène au niveau du point de cassure dans notre famille doit être à l'origine d'une perte de fonction du gène et par conséquent, d'une absence de production du collagène de type II (chaine alpha). Par ailleurs, des dérégulations du gène SOX9 sont rapportées comme pouvant être responsables de la séquence Pierre Robin. Or il a été montré qu'il existait des interactions entre SOX9 et COL2A1. Il est possible que ce complexe soit déstabilisé chez l'enfant et participe à la constitution du syndrome de Pierre Robin.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P306 - DELETION 17P11.2 RESPECTANT RAI1 CHEZ UN ENFANT PRESENTANT UN SYNDROME SMITH MAGENIS-LIKE

M JIMENEZ-POCQUET (1), Y CAPRI (2), S DRUNAT (3), A ABOURA (1), B BENZACKEN (4), AC TABET (1), C DUPONT (1)
1. Unité fonctionnelle de Cytogénétique-Département de génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP), Paris, France
2. Service de Génétique clinique-Département de génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP), Paris, France
3. (3) Unité fonctionnelle de Biochimie Génétique-Département de Génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP), Paris, France
4. Service d'Histologie Biologie de la Reproduction Cytogénétique CECOS, Hôpital Jean Verdier (AP-HP), Paris, France

Le syndrome de Smith-Magenis (SMS, OMIM # 182290) est une pathologie complexe associant principalement une déficience intellectuelle variable, des troubles du sommeil et une dysmorphie craniofaciale et squelettique. Des délétions de la région 17p11.2 couvrant le gène RAI1 ou des mutations de ce gène sont impliquées dans ce syndrome.
Nous rapportons les résultats des explorations génétiques réalisées dans le cadre d'un bilan pour retard des acquisitions, troubles du comportement, et troubles du sommeil aspécifiques, chez un garçon de 5 ans. L'examen clinique de cet enfant montre une brachydactylie bilatérale, et un petit synophris. La mère présente également des troubles du comportement associés à une brachydactylie bilatérale.
Le bilan des investigations génétiques réalisé chez cet enfant rapporte 2 anomalies. Une duplication des sondes de la PAR1 et de la PAR2 a été tout d'abord mise en évidence par MLPA télomérique. Le caryotype confirme l'anomalie et révèle le mécanisme en posant le diagnostic de double Y (47,XYY) . Par ailleurs, une délétion de la sonde LLGL1 située au niveau du locus du syndrome de Smith-Magenis a été mise en évidence par MLPA interstitielle (SALSA®MLPA® kit P245-A1). Les deux autres sondes du kit situées sur ce locus (LRRC48 et RAI1) sont conservées. L'étude de cette délétion 17p11.2 a été réalisée en hybridation in situ. La sonde SMS Cytocell® couvrant le gène FLI1 (17p11.2, chevauchant LLGL1) est retrouvée délétée chez l'enfant, alors que la sonde Kreatech® couvrant le gène RAI1 (17p11.2) ne l'est pas.
La délétion concerne donc le gène FLI1, et respecte le gène RAI1. La caractérisation précise de la taille de cette délétion est en cours. L'étude parentale a montré que cette délétion était héritée de sa mère.

Cette observation rapporte le cas d'une délétion de FLI1 avec conservation de RAI1. Ce gène est présent dans la délétion commune du SMS. A notre connaissance, aucun cas de délétion se limitant à FLI1 n'a été rapporté. Nous discutons du possible rôle pathogène de cette délétion chez cet enfant ayant un syndrome de Smith-Magenis like et sa mère présentant des troubles du comportement.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P307 - VARIANT CENTROMERIQUE D'UN CHROMOSOME 6 DE DECOUVERTE PRENATALE

C GOUMY (1), S Kemeny (1), E Eymard-Pierre (1), C RICHARD (1), L GOUAS (1), P COMBES (1), M Gay-Bellile (1), D GALLOT (2), A TCHIRKOV (1), P VAGO (1)

1. Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
2. Service de Médecine Foetale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France

Les polymorphismes chromosomiques correspondent à des variations de l'aspect des chromosomes, généralement héritées, localisées dans certaines régions chromosomiques et sans conséquence phénotypique. Les variants centromériques des chromosomes 1, 9 et 16 sont bien connus mais d'autres chromosomes peuvent, plus rarement, présenter des variations de taille au niveau de l'hétérochromatine centromérique. Nous décrivons le cas d'un chromosome 6 atypique découvert à la suite d'une amniocentèse réalisée pour hydramnios inexpliqué. Ce chromosome 6 présentait au caryotype une bande supplémentaire, claire en bandes G et sombre en bandes R, au niveau de ses bras courts, dans la région péricentromérique. Cette bande était marquée en bandes C et la FISH à l'aide de la sonde centromérique du 6 montrait un signal élargi au niveau du chromosome 6 atypique. Les caryotypes des parents étaient normaux (la paternité ayant été confirmée par l'étude des microsatellites). En raison du signe d'appel échographique et du caractère de novo de l'anomalie, une CGH array a été réalisée mais n'a pas mis en évidence de déséquilibre, en particulier dans les régions codantes péricentromériques du chromosome 6. La patiente a accouché à terme d'un bébé en bonne santé.

Seulement 4 cas de variants centromériques du 6 ont été décrits à ce jour et tous étaient hérités et sans conséquence phénotypique. Nous pensons donc qu'il n'y a pas de relation directe entre l'hydramnios ayant conduit au diagnostic prénatal et la présence du variant. Nous soulignons l'importance de décrire de tels variants atypiques pour aider au conseil génétique et tenter d'évaluer leur fréquence.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P308 - GOLDENHAR-LIKE ET DELETION 5P

M Decamp (1), N Gruchy (2), N Richard (3), N Leporrier (3), H Mittre (3), ML Kottler (3), G Plessis (3), M Gérard (3)
1. Service de Génétique, CHU Caen, Caen, France
2. Service de Génétique, CHU de Caen, Caen, Georgie
3. Service de Génétique, CHU de Caen, Caen, France

La délétion 5p est une anomalie chromosomique dont la fréquence est entre 1/15 000 et 1/50 000 nouveau-nés. Le tableau clinique comporte un retard mental sévère, une microcéphalie et une dysmorphie caractéristique dans la petite enfance, avec hypertélorisme, visage rond, racine du nez large, fentes palpébrales obliques en bas et micro-rétrognathisme (Mainardi et al, 2006). La dysmorphie devient moins évidente avec l'âge. Le cri dit « du chat » est fréquent mais non constant. Nous rapportons l'histoire clinique d'une petite fille de 3 ans + 9 mois, née hypotrophe avec des signes cliniques du syndrome de Goldenhar. Elle est née à 39 SA, pesant 2320 g (1°P), taille 45 cm (1°P) et PC 31 cm (1°P), avec macrostomie unilatérale et bourgeons prétragiens bilatéraux. Il n'y avait pas de microtie associée. Par la suite, elle a développé un retard global des acquisitions avec marche à 2 ans ½ et un retard de langage (un mot signifiant à 3 ans ½). Le caryotype effectué devant les malformations avec retard global des acquisitions et retard de croissance pré et postnatal a révélé une délétion 5p confirmée par une FISH télomérique 5p, sans autre anomalie chromosomique associée. Le caryotype des parents est en cours. Une CGH va être effectuée pour déterminer les points de cassure. La dysmorphie est compatible avec la délétion 5p mais discrète, avec présence d'un hypertélorisme et d'un visage long. Le cri aigu à la naissance n'a été retrouvé qu'au ré-interrogatoire. Le syndrome de Goldenhar est sporadique et associe de façon très variable une déformation unilatérale du visage avec atteinte de l'oreille (microtie, tags), mandibulaire (microsomie hémifaciale, macrostomie unilatérale, tags juguaux), oculaires (dermoïdes épibulbaires) et des anomalies vertébrales cervicales. En reprenant la littérature, l'association de la délétion 5p et de signes évocateurs de syndrome de Goldenhar a déjà été rapportée dans certaines publications (Ladekarl, 1968 ; Neu et al., 1982 ; Choong et al., 2003 ; Descartes et al., 2006 ; AjaMello et al, 2008 ; Wang et al., 2010), avec présence de microsomie hémifaciale, dermoïde épibulbaire ou macrostomie unilatérale. Cette observation nous pousse à proposer une exploration attentive de la région 5p dans les cas de syndrome de Goldenhar avec RCIU ou retard des acquisitions, par caryotype + FISH, et CGH array.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P309 - DECOUVERTE D'UN CHROMOSOME MARQUEUR (46, XY, DER(6)ADD(6)(Q26)) CHEZ UN ENFANT MAROCAIN
IDENTIFICATION OF A NEW SUPERNUMERARY MARKER CHROMOSOMES (SSMC) (46, XY, DER(6)ADD(6)(Q26)) IN A MOROCCAN BOY

N Serbati (1), L Rachidi (2), H DEHBI (1), S Nadifi (1)

1. Laboratoire de génétique médicale, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc
2. service de pédo-psychiatrie, Hôpital d'enfants - CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc

Les marqueurs chromosomiques surnuméraires sont définis comme des chromosomes addditionnels de structure anormale dont la composition ne peut être détérminée par les techniques de cytogénétique conventionelle (ISCN 2005). La structure des marqueurs chromosomiques surnuméraires est très variable : dérivés (der), inversion duplication (inv dup), anneau (r), isochromosome (i), chromosomes minutes (min). les circonstances de découverte des maqueurs chromosomiques sont variables.

En diagnostic post-natal, ils sont présents chez 0,288% des enfants avec retard mental. Un tiers des MCS est corrélé à des syndromes cliniques connus (Pallister Killian, cat eye..). Certains MCS sont associés à des anomalies phénotypiques sans être pour autant corrélés à un syndrome clinique bien défini, ce qui rend le diagnostic clinique et la prise en charge des porteurs de ces anomalies chromosomiques très difficile.

Nous décrivons le cas d'un enfant âgé de 3 ans issu de parents non consanguins et qui présente un tableau clinique fait de retard staturo-pondéral, retard psychomoteur et dysmorphie faciale associé sur le plan cytogénétique à un chromosome marqueur (46, XY, der(6)add(6)(q26)).

A travers l'étude de ce cas clinique et une revue bibliographique exhaustive, nous espérons exposer les différents phénotypes reliés à des réarrangements complexes du chromosome 6 ainsi que les techniques les récentes pour identifier les MCS.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P310 - DELETIONS XP11.22 IMPLIQUANT LES GENES CLCN5, SHROOM4, BMP15 ET CCNB3 ASSOCIEES A UNE HYDROCEPHALIE, UNE TUBULOPATHIE ET UN RETARD DE CROISSANCE

L TOSCA (1), S BRISSET (2), C METAY (3), A SULEAU-BRIAND (3), G DESCHENES (4), D PINEAU (5), F DI ROCCO (6), M GOOSSENS (3), P LABRUNE (7), G TACHDJIAN (1)

1. Histologie Embryologie Cytogénétique INSERM U935 Université Paris Sud, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
2. Histologie Embryologie Cytogénétique Université Paris Sud, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
3. Plateforme de Génomique IMRB 955 Université Paris Val de Marne, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
4. Néphrologie pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
5. Histologie Embryologie Cytogénétique, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
6. Neurochirurgie pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
7. Pédiatrie, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France

Une cartographie des gènes par les nouveaux outils de la cytogénétique moléculaire s'avère nécessaire à la compréhension des maladies liées à l'X.

Nous rapportons le cas d'un garçon de quatre ans et demi dont l'histoire a débuté durant la grossesse par un hydramnios à répétition ayant nécessité plusieurs drainages. L'échographie du premier trimestre a mis en évidence une clarté nucale augmentée (3,2mm avec longueur crânio-caudale de 63,1mm). L'analyse cytogénétique prénatale sur villosités choriales réalisée à 12SA a montré un caryotype masculin normal. Les échographies de 18 et 22 semaines ont été normales. Les parents n'ont pas d'antécédent personnel particulier.

Depuis sa naissance, l'enfant a présenté une hydrocéphalie ayant nécessité une ventriculocysternostomie, un retard de croissance majeur avec poids et taille à -4DS ainsi qu'un retard psychomoteur global marqué. La marche n'était pas acquise à 4 ans. Le langage est réduit à quelques rares mots dissyllabiques Par ailleurs, l'enfant a présenté une tubulopathie à type de syndrome de Fanconi. Les explorations génétiques réalisées en période post-natale (caryotype standard, caryotype haute résolution et analyse par FISH des régions subtélomériques et du locus 7q11.23) n'ont pas été contributives. L'utilisation de l'hybridation génomique comparative sur puce (CGH array 180K) a mis en évidence deux délétions de la région Xp11.22 de respectivement 148Kb et 2,6Mb. Ces délétions ont été confirmées par FISH. L'enquête familiale a montré que les deux délétions sont héritées de la mère, asymptomatique. Une seconde grossesse vient de débuter.

Parmi les 10 gènes emportés par ces délétions figurent CLCN5, SHROOM4, BMP15 et CCNB3 gènes candidats dont la perte totale d'expression pourrait expliquer les manifestations cliniques ici rapportées. Le gène CLCN5 (chloride channel 5) est impliqué dans la maladie de Dent (transmission liée à l'X) caractérisée par une protéinurie, une hypercalciurie, une hyperphosphaturie et un défaut rénal dans les cas les plus sévères (Wellhauser et al. 2010). Ce transporteur régule le processus d'endocytose et l'assimilation des protéines dans les tubules rénaux proximaux. A ce jour, des mutations du gène sont décrites, ce qui n'est pas le cas des délétions. Le gène SHROOM4 code pour une protéine impliquée dans l'architecture du cytosquelette. Des mutations ou interruptions (point de cassure résultant d'une translocation) de ce gène ont été décrites dans le syndrome Stocco dos Santos, syndrome de retard mental lié à l'X (Hagens et al. 2006). La délétion des gènes BMP15 (facteur de croissance et de différenciation appartenant à la famille du TGFb) et CCNB3 (cycline B3) pourraient expliquer le retard staturo-pondéral de l'enfant.

Cette étude montre l'intérêt de la CGH array pour la description des microremaniements liés à l'X. La corrélation génotype-phénotype, le diagnostic de sexe à partir du sang maternel et le diagnostic prénatal ont été abordés lors du conseil génétique.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P311 - DUPLICATION 17P11.2 : PHENOTYPE CHEZ DEUX ADULTES AVEC SYNDROME DE POTOCKI-LUPSKI.

A LANNOY (1), M DOCO-FENZY (1), N BEDNAREK (2), E LANDAIS (1), P JONVEAUX (3), C BONNET (3), M BERI (3), L TANA (4), F GIERSKI (5), D GAILLARD (1)

1. Génétique, CHU Reims - Maison Blanche, Reims, France
2. Pédiatrie B, CHU Reims - Alix de Champagne, Reims, France
3. Laboratoire de Génétique, CHU Nancy - Hôpitaux de Brabois, Nancy, France
4. Psychiatrie, Polyclinique Courlancy, Reims, France
5. Psychiatrie, CHU Reims - Hôpital Robert Debré, Reims, France

Le syndrome de Potocki-Lupski (OMIM #610883) est un syndrome rare dû à la duplication de la région 17p11.2 (taille commune ~3.7 Mb). Il se traduit classiquement par une hypotonie néonatale avec difficultés d'alimentation, un retard de développement, des troubles du comportement (hyperactivité et traits autistiques), une apnée du sommeil, des anomalies cardiovasculaires et une dysmorphie faciale caractéristique, surtout bien décrite chez les enfants.

Ces dernières années, la CGH-array a permis de porter le diagnostic chez au moins une centaine d'enfants mais le phénotype à l'âge adulte a été très peu rapporté.

Nous décrivons ici deux patients adultes initialement adressés pour un retard des acquisitions et/ou troubles du comportement : une femme âgée de 28 ans et un homme de 37 ans. Ils portent respectivement une duplication de ~4.7 Mb et ~3.7 Mb de la région 17p11.2.

Ces deux patients partagent des traits dysmorphiques communs, dont certains ne sont pas classiquement décrits dans la littérature chez les enfants, notamment : des fentes palpébrales étroites et légèrement obliques en bas et en dehors, un nez proéminent à l'arête fine, une columelle saillante, un profil anguleux et des épaules tombantes avec un tronc penché en avant. Ils présentent également tous deux une petite taille.

La patiente présente un retard léger lui permettant de travailler en atelier protégé. L'hyperactivité et les troubles du sommeil présents dans l'enfance ont évolué vers un caractère plutôt calme avec une hypersomnie. Les troubles alimentaires à type d'anorexie néonatale ont régressé avec l'âge. Cette patiente a développé une aménorrhée secondaire dès l'âge de 18 ans. A l'inverse, le patient présente un retard psychomoteur modéré et son caractère affable dans l'enfance a évolué vers une hétéroagressivité. Il a, en outre, développé une obésité.

Nous rapportons ainsi deux observations de sujets adultes avec duplication 17p11.2 partageant les signes cliniques suivants : une petite taille et une dysmorphie faciale commune présente dans l'enfance ayant évolué avec l'âge vers des traits plus caractéristiques. Sur le plan comportemental, l'évolution est favorable pour la plus jeune mais comprend une note d'agressivité significative pour le deuxième patient, de dix ans son aîné. Le fait que les troubles du comportement puissent évoluer et aller jusqu'à l'hétéro-agressivité doit être souligné dans le phénotype adulte en attendant de plus nombreuses descriptions.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P312 - PRESENTATION VISUELLE INHABITUELLE DES MICRODELETIONS 22Q11.2

C Decaestecker (1), O Boute-Bénéjean (2), C Vincent-Delorme (2), E Laumonier-Demory (3), JF Rouland (3), J Andrieux (4), S Manouvrier-Hanu (2)

1. Service de génétique clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
2. Service de génétique clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, LILLE, France
3. Service d'ophtalmologie, Hôpital Claude Huriez, LILLE, France
4. Plateforme de génomique, Centre de Biologie-Pathologie, LILLE, France

La microdélétion 22q11.2 est l'un des syndromes microdélétionnels les plus fréquemment retrouvés avec une incidence de 1/4000. Son expression clinique extrêmement variable comporte des particularités ophtalmologiques dans 70% des cas. Les anomalies majoritairement observées sont : un embryotoxon postérieur, des vaisseaux rétiniens tortueux au F.O, un excès de peau (ou dermatochalasis) de la paupière ou un strabisme. Plus rarement, on peut constater un ptosis, une amblyopie, un aspect incliné (ou oblique) du nerf optique au F.O. De manière exceptionnelle, une scléro-cornée, une microphtalmie voire une vitréo-rétinopathie familiale exsudative ont été décrites. Nous rapportons le cas de deux patients présentant des manifestations oculaires: l'un une scléro-cornée bilatérale et l'autre des colobomes iriens et rétiniens. Leur présentation clinique, sans syndrome dysmorphique ni malformatif associé, n'est pas typique d'un syndrome de Di George. On retrouve pourtant à l'analyse pangénomique par CGH-array, effectuée pour retard de langage, la microdélétion classique 22q11.2. A notre connaissance l'association de délétions 22q11.2 et de colobomes oculaires n'a jamais été décrite. En revanche, la présence de scléro-cornées a été décrite chez 7 patients porteurs de cette délétion, dont le diagnostic avait été posé, pour 6 d'entre-eux, devant la présence d'une cardiopathie conotroncale congénitale en période pré (2 patients) ou postnatale immédiate (4 patients). Pour le dernier patient, le diagnostic avait été porté de manière fortuite à l'âge de 2 ans, devant un arc aortique droit décelé à la radiographie de thorax. Ce retard au diagnostic s'explique, comme pour notre cas, par la présentation clinique atypique. Chez nos patients, le préjudice visuel isolé en période périnatale n'a pas permis d'évoquer le diagnostic, c'est son association à un retard de langage qui a mené à sa découverte. Il est donc intéressant de rechercher, en cas de signes ophtalmologiques invalidants accompagnant un retard des acquisitions, une microdélétion 22q11.2 en vue du dépistage d'éventuelles malformations associées, d'un traitement précoce, d'un suivi optimal et du conseil génétique.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P313 - LA REVERSION SEXUELLE : ETUDE PAR CYTOGENETIQUE CLASSIQUE, PAR FISH ET PAR PCR-MULTIPLEX D'UNE COHORTE DE PATIENTS.

SEXUAL REVERSION: A STUDY BY CONVENTIONAL CYTOGENETICS, FISH AND PCR-MULTIPLEX A COHORT OF PATIENTS.

I Ben Hadj Hamida (1), S Mougou-Zerelli (1), S Dimassi (1), A Htira (1), M Kammoun (1), S Nouri (2), M Gribaa (1), A Saad (1)

1. laboratoire de cytogénétique, CHU Farhat Hached sousse, Sousse, Tunisie
2. Service de Néonatologie, CHU Farhat Hached sousse, Sousse, Tunisie

La différenciation sexuelle chez l'humain n'étant pas simplement basée sur la présence ou l'absence du chromosome Y, en effet, un certain nombre d'hommes 46,XX et de femmes 46,XY sont rapportés dans la littérature. Il s'agit d'une discordance entre le sexe génotypique et le sexe phénotypique d'un individu. La réversion sexuelle 46,XY chez les humains est relativement fréquente (environ 1 nouveau-né sur 3000) et génétiquement hétérogène, alors que la réversion sexuelle 46,XX est plus rare (1 nouveau-né sur 20 000) et elle est généralement causée par des translocations du gène SRY sur un chromosome X ou un autosome.

Nous avons recensé au sein du laboratoire de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction du CHU Farhat Hached de Sousse durant la période allant du mois de Janvier 2010 au mois de Mai 2011, 9 cas de reversions sexuelles. Deux Hommes à caryotype : 46,XX qui présentaient une azoospermie avec des testicules de petite taille, une stérilité et une FSH basse. Sept femmes à caryotype 46,XY présentaient une aménorrhée primaire avec une dysgénésie gonadique ou une ambigüité sexuelle avec un retard de croissance. Une hybridation in situ fluorescente a été réalisée pour ces derniers cas à la recherche du gène SRY qui était présent dans tous les cas sauf un (un homme 46,XX). Ce résultat a été par ailleurs, confirmé par une PCR-multiplex.

Pour le seul patient à caryotype 46,XX avec un gène SRY présent sur un chromosome X, le phénotype pourrait être expliqué par une translocation du gène SRY résultant d'une recombinaison méiotique entre les chromosomes X et Y paternels. D'autres gènes autosomaux vraisemblablement agissant en aval du gène SRY seraient à l'origine de la réversion sexuelle chez le deuxième patient 46,XX.

Concernant les femmes 46,XY elles sont porteuses d'un chromosome Y avec présence du gène SRY. Ces femmes pourraient avoir soit un syndrome d'insensibilité aux androgènes soit une mutation du gène SRY. Le séquençage du gène SRY est prévu dans ces cas ainsi que la recherche du gène SOX9.

Mots clés : réversion sexuelle, PCR-Multiplex, FISH.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P314 - CARACTERISATION D'UNE ANOMALIE CHROMOSOMIQUE CHEZ UN PATIENT SUSPECT DE SYNDROME DE WILDERVANCK

D Cailley (1), J Bouron (1), J Toutain (1), R Saura (1), B Arveiler (1), D Lacombe (1), C Rooryck-Thambo (1)
1. Service de génétique médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux, France

Caractérisation d'une anomalie chromosomique chez un patient suspect de syndrome de Wildervanck.

Dorothée Cailley1, Julie Bouron1, Jérôme Toutain1, Robert Saura1, Benoit Arveiler1,2, Didier Lacombe1,2, Caroline Rooryck-Thambo1,2.

1. Service de génétique médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
2. Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme (MRGM), EA 4576, Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France.

Nous rapportons le cas d'une fillette présentant l'association d'un syndrome de Duane bilatéral, d'une surdité bilatérale de transmission et d'une anomalie de Klippel-Feil. Cette triade clinique a fait évoquer en premier lieu le diagnostic de syndrome de Wildervanck ou syndrome cervico-oculo-acoustic (OMIM#14600).
Le caryotype et la FISH réalisés chez cette patiente ont mis en évidence un marqueur chromosomique 22 (mar.ish(mar)(D14Z1/D22Z1++,WCP22+,D22S75++), que nous avons finement caractérisé par CGH-array par la présence d'une duplication/triplication d'environ 3.67 Mb en 22q11.1q11.2. Cette anomalie comprend 103 gènes et est d'apparition de novo chez la patiente.
Le marqueur chromosomique du 22 est connu comme étant associé de manière caractéristique au syndrome de Cat-Eye (OMIM#115470). Cette patiente ne présente pas d'anomalies cardiaques ni de signes oculaires pathognomoniques de ce syndrome mais présente bien une anomalie rectale et des pits auriculaires s'intégrant dans le phénotype du Cat-Eye syndrome.

Cette observation met en évidence le chevauchement phénotypique entre les deux syndromes et montre l'intérêt de la réalisation d'une CGH-array chez les patients présentant un phénotype évoquant un syndrome de Wildervanck.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P315 - IDENTIFICATION, PAR CGH ARRAY, D'UNE DELETION PARTIELLE DU GENE AUTS2 CHEZ UN PATIENT PRESENTANT UN RETARD DE DEVELOPPEMENT AVEC TROUBLES DE LA SERIE AUTISTIQUE.

N Le Meur (1), A Goldenberg (2), S Marret (3), P Chambon (4), S Fourneaux (5), T Frebourg (6), P Saugier-Veber (7)

1. Fédération de Génétique de Haute-Normandie et Laboratoire de Cytogénétique, Etablissement Français du Sang-Normandie, Bois-Guillaume, France
2. Fédération de génétique de Haute-Normandie et Service de génétique, CHU, ROUEN, France
3. Département de Pédiatrie Néonatale, CHU, Rouen, France
4. Laboratoire de Biologie de la Reproduction Histologie Cytogénétique et Fédération de Génétique de Haute Normandie, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
5. Fédération de Génétique de Haute-Normandie et Service de Génétique, CHU, Rouen, France
6. Inserm U614 et Département de Génétique, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie et CHU, Rouen, France
7. Fédération de Génétique de Haute-Normandie et Service de Génétique et Inserm U614, CHU et Institut Hospitalo-Universitaire, Université de Rouen, Rouen, France

Au cours des dernières années, les travaux de génétique moléculaire et les études de cytogénétique moléculaire ont fait émerger plusieurs lignes d'évidence du chevauchement des voies biologiques impliquées dans la déficience intellectuelle, l'autisme, l'épilepsie et la schizophrénie. Ainsi, dans ces différents cadres cliniques, ont été identifiées des mutations pour FMR1, NRXN1, GRIN2A, GRIN2B et des délétions en 5q14 (MEF2C),15q13.3, 16p13.11 et 22q13.

Nous rapportons l'observation de E., âgé de 33 mois, enfant unique d'un couple non consanguin, qui est vu à l'âge de 17 mois pour le bilan étiologique d'un retard global des acquisitions. Il est né au terme de 42SA, macrosome (4010g; 37cm;53cm) et a présenté une hypotonie et des difficultés alimentaires à la naissance puis un retard postural. A 33 mois, il a un retard global important des acquisitions (station assise libérée après 18 mois, marche avec appui à 30 mois), une absence de langage, un contact présent, des sourires et des éclats de rire et quelques stéréotypies et colères, il garde des troubles alimentaires sévères (fausses routes). Il a une macrocrânie à +2.5DS et une dysmorphie faciale (grand front large, épi frontal, rétrognatisme, menton carré avec pli mentonnier, hypertélorisme, visage large, fentes palpébrales effilées, lèvres fines, fossette sacrée). L'imagerie cérébrale et l'EEG sont normaux.

L'analyse par CGH Array a mis en évidence une délétion de 200 Kb en 7q11.22 emportant exclusivement l'exon 5 du gène AUTS2, survenue de novo.

Le gène AUTS2 (Autism Susceptibility candidate 2) a été identifié par l'étude de jumeaux monozygotes concordants pour l'autisme et présentant une translocation équilibrée interrompant ce grand gène. Par la suite, trois autres remaniements chromosomiques impliquant AUTS2 ont été décrits chez des patients autistes (une translocation équilibrée, une inversion et une petite duplication de l'exon 6). De façon intéressante, des remaniements chromosomiques impliquant AUTS2 ont également été décrits dans d'autres cadres cliniques : épilepsie (une petite délétion de 40 Kb) et déficience intellectuelle (trois translocations équilibrées interrompant AUTS2). Cette extension du spectre phénotypique reflète le chevauchement des voies biologiques entre ces pathologies puisque 30% des patients autistes présentent une épilepsie et 70% une déficience intellectuelle. De façon surprenante, aucune mutation ponctuelle de ce gène n'a encore été rapportée.

AUTS2 est une protéine exprimée dans le noyau des neurones et de certains progéniteurs neuronaux. Elle joue un rôle critique au cours du développement du cortex cérébral et du cervelet.

Ainsi, nous rapportons un nouveau cas de remaniement génomique du gène AUTS2 chez un enfant présentant une déficience intellectuelle. Le séquençage systématique du gène AUTS2 dans des cohortes de patients atteints d'autisme, de déficience intellectuelle et/ou d'épilepsie permettra de préciser la prévalence des mutations de ce gène.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P316 - DELETION 8Q21.11 CHEZ UN ENFANT ATTEINT DE RETARD MENTAL SYNDROMIQUE : UN NOUVEAU SYNDROME MICRODELETIONNEL AVEC UN PHENOTYPE RECONNAISSABLE.

A Goldenberg (1), P Saugier-Veber (2), C Hervé (3), P Chambon (4), N Di Fiore (5), N Drouot (6), A Rossi (5), T Frebourg (7), N Le Meur (8)

1. Fédération de génétique de Haute-Normandie et Service de génétique, CHU, ROUEN, France
2. Fédération de Génétique de Haute-Normandie et Service de Génétique et Inserm U614, CHU et Institut Hospitalo-Universitaire, Université de Rouen, Rouen, France
3. Institut médico-Pédagogique, « la Maison de l'Enfant », Bapeaume lès Rouen, France
4. Laboratoire de Biologie de la Reproduction Histologie Cytogénétique et Fédération de Génétique de Haute Normandie, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
5. Fédération de Génétique de Haute-Normandie et Laboratoire de Cytogénétique, Etablissement Français du Sang-Normandie, Bois-Guillaume, France
6. Fédération de Génétique de Haute-Normandie et Service de Génétique, CHU, Rouen, France
7. Inserm U614 et Département de Génétique, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie et CHU, Rouen, France
8. Fédération de Génétique de Haute-Normandie et Laboratoire de Cytogénétique, Etablissement Français du Sang-Normandie, Bois-Guillaume, France

Nous rapportons l'observation d'un garçon de 6 ans présentant un hypotonie constatée dans les premiers mois de vie, un retard global des acquisitions, une dysmorphie faciale, et une délétion (8)(q21.11) identifiée par CGH-Array. P. est né eutrophe au terme d'une grossesse sans particularité. Il a développé un retard des acquisitions motrices avec une hypotonie sévère, une grande plagiocéphalie consécutive et station assise acquise après 1 an, une marche acquise à 4 ans et un retard du langage. Ses mensurations sont dans la norme avec cependant une macrocranie relative. Il présente une dysmorphie franche avec des oreilles mal ourlées, une hypoplasie des ailes du nez, un petit menton, une petite bouche, un ptosis asymétrique. L'IRM cérébrale objective un aspect très grêle du corps calleux et un élargissement des ventricules et des espaces péricérebraux. Les caryotypes standard et haute résolution ne révèlent pas d'anomalie chromosomique. La CGH-Array, réalisée avec des lames 105K, met en évidence une délétion de la région 8q21.11 qui s'étend sur 9 Mb. L'étude des parents indique que ce remaniement est survenu de novo. De plus, l'absence de CNVs polymorphiques couvrant la totalité de cette région et la taille importante de l'anomalie sont en faveur de sa causalité dans le phénotype observé.

Cette délétion emporte 260 gènes dont plusieurs gènes candidats, au regard du phénotype : le gène STMN2, notamment, joue un rôle dans la plasticité cérébrale et voit son expression cérébrale abolie en cas de trisomie 21. Le gène PMP2 code pour une protéine de la myéline. Le gène ZFHX4 code pour un facteur de transcription exprimé dans le cerveau.

Une publication très récente rapporte 8 patients non apparentés présentant des délétions chevauchantes de cette région 8q21.11 et un phénotype très similaire à celui du patient que nous présentons.

Nous décrirons les éléments cliniques caractéristiques de ce nouveau syndrome microdélétionnel qui sont une hypotonie, un retard mental, une dysmorphie reconnaissable (face ronde, joues pleines, grandes oreilles en rotation postérieure, ptosis, arc de Cupidon marqué, front haut, hypoplasie des ailes du nez, philtrum court, bouche aux coins tombants). Certains patients ont des opacités cornéennes ou des surdités de perception. Nous suggérons le criblage du gène ZFHX4 chez des patients présentant le même phénotype.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P317 - IDENTIFICATION PAR CGH ARRAY D'UNE DELETION PARTIELLE DU GENE BRWD3 CHEZ UN PATIENT PRESENTANT UNE DEFICIENCE INTELLECTUELLE MODEREE ET UNE AVANCE STATURALE.

S Grotto (1), P Saugier-Veber (2), N Le Meur (3), P Chambon (4), S Fehrenbach (5), T Frebourg (6), V Drouin-Garraud (5)
1. Fédération de Génétique de Haute-Normandie et Service de Génétique, CHU, France, France
2. Fédération de Génétique de Haute-Normandie et Service de Génétique et Inserm U614, CHU et Institut Hospitalo-Universitaire, Université de Rouen, Rouen, France
3. Fédération de Génétique de Haute-Normandie et Laboratoire de Cytogénétique, Etablissement Français du Sang-Normandie, Bois-Guillaume, France
4. Laboratoire de Biologie de la Reproduction Histologie Cytogénétique et Fédération de Génétique de Haute Normandie, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
5. Fédération de Génétique de Haute-Normandie et Service de Génétique, CHU, Rouen, France
6. Inserm U614 et Département de Génétique, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie et CHU, Rouen, France

De nombreux syndromes associant déficience intellectuelle et avance staturale ont été décrits. Ils résultent soit de causes monogéniques comme le syndrome de Sotos ou le syndrome de Simpson-Golabi-Behmel, soit de causes chromosomiques, comme la délétion 13q14 ou la duplication 15q26.1.

Nous rapportons l'observation de M., né par césarienne pour souffrance fœtale aiguë, à 39 SA avec des mensurations supérieures au 97ème percentile pour la taille (55 cm) et le périmètre crânien (38.5 cm). Il présentait une hypotonie axiale en période néonatale. Il a développé un retard de développement psychomoteur avec une marche acquise à 24 mois, un retard de langage, des difficultés scolaires, associés à des troubles du comportement à type de colères et d'agressivité. A l'âge de 16 ans et demi, l'examen clinique retrouve une avance staturo-pondérale : taille à 195 cm (+4DS), poids à 125 kg (>+5DS) et une macrocrânie avec un PC à 64 cm (>+4DS). Il a une dysmorphie faciale, un habitus gynoïde et un retard pubertaire. L'IRM cérébrale, le bilan endocrinien, le caryotype sanguin, l'analyse des gènes FMR1 et NSD1 sont normaux. L'histoire familiale est sans particularité. L'analyse par CGH Array a permis de mettre en évidence une délétion de 74 Kb en Xq21.1 emportant uniquement la région 3' du gène BRWD3 (exons 11 à 41). L'absence de remaniement chez la mère de M. suggère le caractère de novo de cette délétion.

A ce jour, seules 2 mutations du gène BRWD3 ont été décrites, correspondant à des mutations tronquantes. Dans ces deux familles, le phénotype comporte une déficience intellectuelle modérée associée à une avance staturale, une macrocrânie et des éléments dysmorphiques.

La protéine BRWD3 agit comme un régulateur positif de la voie de signalisation JAK/STAT, très conservée dans l'évolution, impliquée dans la régulation de la prolifération cellulaire : (i) une augmentation de l'expression de STAT1 a été observée dans de nombreuses tumeurs chez l'homme; (ii) une mutation de JAK2 est responsable de l'activation constitutive de l'activité kinase à l'origine de la polycythaemia vera, caractérisée par la prolifération des érythrocytes; (iii) des mutations gain de fonction de hop, l'homologue de JAK dans la Drosophile, résultent en un excès de prolifération des cellules au stade larvaire et en une différenciation prématurée conduisant à différents types de tumeurs.

L'identification d'une 3ème mutation du gène BRWD3 dans un cadre clinique comparable permet de confirmer l'implication de ce gène dans la régulation de la croissance et le fonctionnement cérébral. Ce gène s'ajoute à la longue liste des étiologies génétiques à évoquer devant une déficience intellectuelle avec avance staturale.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P318 - DELETION INTERSTITIELLE 6P22.3 : DEFINITION D'UNE NOUVELLE REGION MINIMALE CRITIQUE.

L Pinson (1), A Schneider (2), F Petit (3), J Andrieux (4), E Haquet (1), M Tournaire (2), M Girard (2), P Blanchet (1), C Coubes (1), D Geneviève (1), MJ Perez (1), P Sarda (1), M Willems (1), G Lefort (2), F Pellestor (2), S Taviaux (2), J Puechberty (1)

1. Département de Génétique Médicale, Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
4. Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France

Les délétions du bras court du chromosome 6 sont rares. Grâce aux techniques de cytogénétique classique, les délétions du bras court du chromosome 6 ont été répertoriées en délétions terminales (6p24-pter) et interstitielles (6p22-p24).
L'utilisation des techniques de CGH-array pangénomique en diagnostic a permis de décrire de nouveaux microremaniements et de les caractériser.
Nous rapportons l'observation d'une patiente de 5 ans et demi porteuse d'une délétion 6p22.3 identifiée par puce à ADN (Affymetrix, SNP6.0). L'enfant présente une déficience intellectuelle modérée, une hyperactivité avec un comportement jovial, des éléments morphologiques mineurs comprenant un faciès triangulaire, un hypotélorisme, une enophtalmie, des oreilles asymétriques, basses implantées et des anomalies des extrémités (à type de clinodactylie du 5ème doigt, d'élargissement entre les premiers et deuxièmes orteils et de gros orteils larges). L'examen neurologique retrouve une spasticité modérée des membres inférieurs, une hypotonie axiale et une hyperlaxité. L'IRM cérébrale est normale.

Huit cas de délétions interstitielles du bras court du chromosome 6 impliquant la région 6p22.3 ont été rapportés par l'équipe de Bremer et collaborateurs.
Les principales caractéristiques cliniques décrites par cette équipe sont une déficience intellectuelle, une hypotonie, une dysmorphie crânio-faciale, des clinodactylies et/ou syndactylies ainsi que des malformations cérébrales, cardiaques et rénales variables. Nous soulignons le fait que notre patiente ne présente pas de malformation cardiaque ou rénale.
Bremer et collaborateurs définissent une région minimale critique de 2,2 Mb.
De manière intéressante, la délétion de notre patiente correspond à cette région minimale critique, à l'exception du gène DTNBP1, plus proximal.

Trois délétions interstitielles 6p22.3 supplémentaires identifiées par CGH-array, rapportées dans la base de données européenne Decipher, nous ont permis de définir une plus petite région chevauchante de 2,02 Mb. Cette région comporte huit gènes : MYLIP, GMRP, ATXN1, BPM24, CAP2, FAM8A1, NUP153, KIF13A. A ce jour, aucun phénotype n'est clairement corrélé à l'haploinsuffisance de l'un de ces gènes.
Nous discutons la fonction de ces gènes, notamment des gènes MYLIP et ATXN1 qui pourraient être impliqués dans la déficience intellectuelle.

En conclusion, notre étude a permis de réduire la région minimale de chevauchement des délétions interstitielles 6p22.3. L'étude de cas supplémentaires bien documentés en clinique et en CGH-array permettrait éventuellement de définir un nouveau syndrome microdélétionnel. Un appel à collaboration est lancé.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P319 - DELETIONS DISTALES 2Q37 : TRAVAIL COLLABORATIF SUR UNE SERIE DE 14 PATIENTS

C Leroy (1), E Landais (1), N Bednarek (2), S Briault (3), B Delobel (4), C Le Caignec (5), P Jonveaux (6), MJ Grégoire (6), F Mugneret (7), A Toutain (8), S Arpin (8), B Leheup (9), C Thauvin-Robinet (10), A David (11), D Lacombe (12), L Taine (12), MA Delrue (12), J Motte (13), P Sabouraud (13), N Golovkine (14), M Mozelle (1), O Tassy (15), D Gaillard (1), M Doco-Fenzy (1)

1. Service de génétique, CHU de Reims – Hopital Maison Blanche, Reims, France
2. Service de pédiatrie B, CHU de Reims - Alix de Champagne, Reims, France
3. Laboratoire de cytogénétique chromosomique, CHR d'Orléans - Hôpital de la Source, Orléans, France
4. Centre de génétique chromosomique, CHU de Lille - Hôpital Saint Vincent de Paul, Lille, France
5. Service de génétique médicale, CHU de Nantes - Institut de Biologie, Nantes, France
6. Service de cytogénétique et génétique moléculaire, CHU de Nancy - Hôpital Brabois adultes, Vandoeuvre-Lès-Nancy, France
7. Laboratoire de cytogénétique, CHU Dijon - Plateau technique de Biologie, Dijon, France
8. Service de génétique, CHRU de Tours - Hôpital Bretonneau, Tours, France
9. Service de médecine infantile 3 et de génétique clinique, CHU de Nancy - Hôpital Brabois enfants, Vandoeuvre-Lès-Nancy, France
10. Centre de génétique, CHU de Dijon - Hôpital du Bocage, Dijon, France
11. Service de génétique clinique, CHU de Nantes - Hôtel Dieu, Nantes, France
12. Service de génétique médicale, CHU de Bordeaux - Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France
13. Service de pédiatrie A, CHU de Reims – American Memorial Hospital, Reims, France
14. Service de psychothérapie de l'enfant et l'adolescent, CHU de Reims – Hôpital Robert Debré, Reims, France
15. Département de biologie cellulaire et développement, IGBMC, Illkirch, France

Les délétions distales 2q37 concernent la dernière bande cytogénétique du bras long du chromosome 2. Elles sont classiquement décrites comme associées au syndrome brachydactylie – retard mental et aux signes cliniques suivants : dysmorphie faciale, anomalies squelettiques, petite taille, obésité et retard de développement avec troubles du comportement. Plus d'une centaine de cas ont déjà été décrits dans la littérature, mais peu d'études proposent une cartographie précise de ces délétions. De plus, bien que le rôle du gène HDAC4 ait été récemment démontré, l'implication dans le phénotype des nombreux autres gènes inclus dans ces délétions est encore mal connue.

Cette étude porte sur une cohorte de 14 patients avec délétion distale 2q37, colligée au sein du réseau télomère ACLF entre 2002 et 2011. La délétion 2q37 a été diagnostiquée chez des patients avec retard de développement, par le caryotype complété par la FISH subtélomérique. Nous avons précisé la taille des délétions grâce à la CGH-array (puces BAC/PAC ou oligonucléotides), la FISH (clones BACs et PACs) et la QPCR. Lorsque cela était possible, une étude parentale a été effectuée ainsi qu'une identification de l'origine parentale de l'allèle délété par l'analyse des marqueurs microsatellites.

Parmi les 14 patients, 13 présentaient une grande délétion distale 2q37 dont la taille minimale s'échelonnait entre 2,5Mb et 8,7Mb, la plus grande emportant environ 120 gènes. Les points de cassure s'étendaient sur les 3 sous-bandes cytogénétiques (2q37.1 à 2q37.3). Les délétions étaient isolées pour 9 patients et associées à une duplication 2q37 pour 1 patient. Trois patients étaient porteurs d'une translocation déséquilibrée avec un dérivé 2. Le dernier patient présentait une délétion interstitielle 2q37.2 de 1,1Mb.

Les signes cliniques les plus souvent retrouvés ont été corrélés à la cartographie des délétions et à la localisation des différents gènes candidats. Les plus spécifiques étaient la dysmorphie faciale, commune à tous les patients, la brachydactylie de type E, les troubles du comportement avec troubles autistiques et le retard psychomoteur. L'obésité n'était pas constante et était préférentiellement observée chez les sujets porteurs d'une délétion de grande taille. Aucune influence de l'origine parentale de l'allèle délété n'a pu être retrouvée.

En conclusion, nous avons cartographié ces délétions et comparé le génotype et le phénotype afin de préciser les régions minimales critiques et les gènes d'intérêt du syndrome de la délétion

2q37. Pour affiner cette corrélation et poursuivre la recherche de nouveaux gènes candidats, de nouvelles inclusions sont souhaitées.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P320 - CARACTERISATION D'UNE DUPLICATION CRYPTIQUE XQ28 RESULTANT DE LA RECOMBINAISON D'UNE INVERSION PERICENTRIQUE DU CHROMOSOME X

A Goldenberg (1), P Saugier-Veber (2), D Sanlaville (3), G Joly-Helas (4), A Labarre (5), B Macé (4), T Frebourg (6), P Chambon (4)

1. Fédération de génétique de Haute-Normandie et Service de génétique, CHU, ROUEN, France
2. Fédération de Génétique de Haute-Normandie et Service de Génétique et Inserm U614, CHU et Institut Hospitalo-Universitaire, Université de Rouen, Rouen, France
3. Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Groupement Hospitalier Est, Bron, France
4. Laboratoire de Biologie de la Reproduction Histologie Cytogénétique et Fédération de Génétique de Haute Normandie, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
5. Département de Pédiatrie Néonatale et Réanimation, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
6. Inserm U614 et Département de Génétique, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie et CHU, Rouen, France

Les duplications du chromosome X impliquent le plus souvent la région distale du bras long du chromosome X et sont responsables chez les hommes d'un retard mental sévère, d'une hypotonie axiale majeure, d'importantes difficultés d'alimentation, d'une dysmorphie, d'anomalies génitales et d'une susceptibilité aux infections. Chez la femme, les duplications Xqter ne sont habituellement pas associées à un phénotype compte tenu des mécanismes d'inactivation du chromosome X remanié. Le développement des techniques moléculaires telles que la CGH-array a permis de détecter des duplications cryptiques en Xq28 et de mettre en évidence le rôle prépondérant du gène MECP2 dans le phénotype. Les duplications du bras long du chromosome X résultent le plus souvent d'une duplication intrachromosomique ou d'une translocation X/autosome ou X/Y et transmise à l'état déséquilibré.

Nous rapportons la caractérisation d'un mécanisme plus exceptionnel de duplication Xqter illustré par l'observation d'un garçon âgé de 2 ans 1/2 vu initialement en hospitalisation néonatale dans le contexte d'un syndrome polymalformatif (coarctation de l'aorte, corps calleux fin, anomalie génitale, stridor congénital, retard de croissance intra-utérin). L'évolution est très sévère : troubles alimentaires et respiratoires persistants ayant nécessité une gastrostomie, surdité, retard de croissance staturopondéral important, troubles de la relation et retard psychomoteur massif. La recherche d'anomalies chromosomiques cryptiques par QMPSF puis par FISH chez le garçon a révélé l'existence d'une duplication Xqter associée à une délétion Xpter évoquant la recombinaison méiotique d'une inversion péricentrique parentale d'un chromosome X. Une inversion péricentrique cryptique du chromosome X a effectivement été retrouvée chez sa mère par FISH.

La mère de ce garçon ayant une petite taille et une incurvation des poignets évoquant une altération du gène SHOX en Xp22.33, et pour répondre à la question du conseil génétique, nous avons réalisé une CGH-array (lame Agilent 4x180k, Pr Sanlaville, Lyon) ciblée sur le chromosome X chez le garçon et sa mère. Cette CGH-array a permis de vérifier l'absence de délétion aux points de cassure de l'inversion maternelle et de localiser les points de cassure de l'inversion maternelle à 3Mb du télomère de bras long du chromosome X et dans l'intron 3 du gène SHOX en Xp22.23, à 598 Kb du télomère de bras court. Ce remaniement illustre l'intérêt de la nouvelle génération de lames de CGH-array qui explore les régions pseudo autosomiques et rappelle l'importance de l'exploration des régions pseudo-autosomiques des gonosomes en cas de découverte de remaniement télomérique isolé et détecté par l'ancienne génération de lame de CGH-array Agilent. Ainsi ce mécanisme exceptionnel de duplication Xqter et ses conséquences en terme de conseil génétique illustrent l'intérêt d'une interaction étroite entre les investigations cliniques, cytogénétiques et moléculaires.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P321 - CARACTERISATION CLINIQUE ET MOLECULAIRE D'UNE TRISOMIE 8Q ET UNE MONOSOMIE 18Q PARTIELLES CHEZ UN NOURRISSON DE 3 MOIS

H Hannachi (1), S Mougou (1), M Kammoun (1), N Jammel (1), H Ben Hammouda (2), A Saad (1)

1. laboratoire de cytogénétique, biologie moléculaire et biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

2. Service de pédiatrie, CHU Taher Sfar, Mahdia, Tunisie

La corrélation génotype/phénotype en pratique cytogénétique courante a été révolutionnée par l'avènement des techniques moléculaires innovantes, comme la CGH-array, qui permet une caractérisation très précise des points de cassures. Cette technique a servi d'outil essentiel dans notre pratique. Nous rapportons, ici le cas d'un nourrisson de 3 mois présentant un syndrome malformatif associant un retard de croissance, une dysmorphie faciale, une luxation congénitale de la hanche et un pied bot bilatéral. Le caryotype standard a révélé une formule chromosomique 46,XY, der18 t(8q24.1;18q21.3)mat résultant en une monosomie 18q partielle et une trisomie 8q partielle. La CGH-array a permis une localisation précise des points de cassures en 8q24.12 et 18q21.32. Ces réarrangements ont été vérifiés par FISH en hybridant des sondes de peinture 8q (Kreatech®) et 18 q (Kreatech®), ainsi que des sondes télomériques 8qtel (vysis®) et 18qtel (vysis®). Le phénotype associé à une délétion 18q terminale comprend des troubles cognitifs, une hypotonie, un retard statural, des anomalies du conduit auditif et des organes génitaux, des déformations du pied, une microcéphalie et un défaut de myélinisation du SNC. Notre patient présente certains éléments de ce syndrome comme le retard de croissance postnatal, et la microcéphalie. Ces signes semblent secondaires à la délétion de la région critique minimale (18q22.3-q23) souvent associée à un défaut de myélinisation et un déficit en hormone de croissance. D'autre part, ce patient est prédisposé à développer certains symptômes de la duplication 8q24.1-qter, en particulier un retard mental, une épilepsie et une élévation des taux des transaminases plasmatiques. En effet, La duplication de la région 8q24 a été impliquée dans différentes formes d'épilepsie et le gène GRINA situé sur cette région a été proposé comme candidat pour une forme d'épilepsie idiopathique généralisée. L'élévation des taux de transaminases serait attribuée à l'augmentation du taux d'expression du gène GPT situé sur la région 8q24.3-8qter. De jour en jour, la CGH-array s'impose comme une technique de choix dans la caractérisation des réarrangements génomiques complexes en vue d'établir une corrélation génotype/phénotype précise et afin de proposer un conseil génétique pertinent et au mieux une thérapeutique substitutive à chaque fois où c'est possible comme c'est le cas de notre patient.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P322 - INTERET DE L'EXPLORATION CIBLEE DES REGIONS SUBTELOMERIQUES ET DE 21 REGIONS CHROMOSOMIQUES IMPLIQUEES DANS DES SYNDROMES MICRODELETIONNELS CHEZ DES FOETUS PRESENTANT UNE ANOMALIE DE LA CLARTE NUCALE ET UN CARYOTYPE NORMAL

L Gouas (1), C Goumy (1), S Kémény (1), H Laurichesse (2), AM Beaufrère (3), E Eymard-Pierre (1), C Pebrel-Richard (1), P Combes (1), L Véronèse (1), A Tchirkov (1), P Vago (1)

1. Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
2. Gynécologie obstétrique, Unité de Médecine Maternofoetale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
3. Anatomie pathologique, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France

Introduction : une augmentation de l'épaisseur de la clarté nucale (CN) au dessus du 99ème percentile objectivée à l'échographie du premier trimestre de grossesse [11-14 semaine d'aménorrhée (SA)] est associée à un risque élevé d'aneuploïdie. Malgré l'absence d'anomalie identifiée sur le caryotype standard, l'évolution de la grossesse peut être péjorative avec un risque fonction de l'épaisseur de la clarté nucale (fausse couche précoce ou tardive, mort in utero, malformations viscérales et squelettiques, pathologies génétiques à révélation prénatale tardive ou post-natale).

Objectif : évaluer l'intérêt, dans le cadre d'une étude prospective (septembre 2008-septembre 2011), de l'exploration des régions subtélomériques et de 21 régions chromosomiques impliquées dans des syndromes microdélétionnels, par MLPA, dans le diagnostic chromosomique prénatal des fœtus avec anomalie de la clarté nucale (11-14 SA) et caryotype normal.

Matériels et Méthodes : Après culture cellulaire, l'ADN génomique a été extrait des cellules (NucleoSpin Blood, Macherey-nagel) et 100 ng d'ADN ont été utilisés pour l'exploration des régions subtélomériques (SALSA P036/P070) et de 21 régions chromosomiques (SALSA P245) par MLPA (MRC-Holland, Pays-Bas). Les produits de PCR ont été séparés sur un séquenceur automatique (GeXP Genome Lab, Beckman-Coulteur) et la quantification réalisée avec Excel.

Résultats : La MLPA a été réalisée chez 92 fœtus (CN > 3 mm) (81 PVC et 11 LA). 67 PVC (82,7%, CN moyenne = 4,2 mm, [3-16 mm]) et 8 LA (72,7%, CN moyenne = 3,4 mm, [3,2 - 4,1 mm]) présentaient une CN isolée ; 14 PVC (17,3%, CN moyenne = 5,8 mm, [3-13 mm]) et 3 LA (33%, CN moyenne = 8,3 mm, [7-9,7 mm]) présentaient d'autres signes d'appel échographiques. La grossesse a été poursuivie normalement pour 72 d'entre eux (78,3% dont 64 PVC et 8 LA), 2 sont nés à terme mais avec une malformation congénitale (2,2%), 3 sont morts in utero (3,2%) et une interruption médicale de grossesse a été réalisée pour 15 d'entre eux (16,3% dont 12 PVC et 3 LA). La MLPA n'a pas été interprétable pour 5 fœtus (faible qualité ou quantité d'ADN extrait). Avec les kits P036 et P070, une monosomie de la région 18qter et une trisomie de la région 5pter ont été identifiées et confirmées par FISH chez un fœtus ayant présenté une CN de 5,3 mm à 13 SA puis une cardiopathie complexe.

Conclusions : Notre stratégie de criblage par MLPA a permis de mettre en évidence une anomalie cryptique chez un fœtus. L'application en routine de la MLPA pour l'exploration des régions subtélomériques et de 21 régions chromosomiques impliqués dans des syndromes microdélétionnels chez ces fœtus semble montrer un intérêt limité. A noter qu'une fréquence de 8,3% de CNV pathogènes identifiés par analyse chromosomique sur puce à ADN a été récemment rapportée dans une cohorte de fœtus avec une augmentation de la CN mais que cette approche pose continue de poser des difficultés d'interprétation surtout en prénatal.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P323 - CARACTERISATION MOLECULAIRE PAR PUCE A ADN D'UNE DELETION TERMINALE 3PTER FAMILIALE A PHENOTYPE NORMAL.

L LOHMANN (1), JM COSTA (2), C DIALLO (3), P KLEINFINGER (1), M MONTAGNON (1), D TROST (1), A BAZIN (1)

1. Cytogénétique, Laboratoire CERBA, Saint Ouen l'Aumône, France
2. Biologie Moléculaire, Laboratoire CERBA, Saint Ouen l'Aumône, France
3. Gynécologie Obstétrique, CH de Saint Brieuc, Saint Brieuc, France

La délétion 3p terminale est habituellement associée à un phénotype particulier qui comprend un retard de croissance important, une dysmorphie faciale caractéristique et un retard mental. Cependant, la délétion terminale 3p25-pter a aussi été décrite dans des familles sans phénotype anormal. Nous rapportons ici le cas d'un patient dont le caryotype sanguin, demandé pour échecs de la reproduction, a mis en évidence une délétion 3p25-pter en cytogénétique conventionnelle, confirmée par hybridation in situ et MLPA (Multiplex Ligation-dependant Probe Amplification). L'enquête familiale nous permet de caractériser la transmission familiale de cette délétion retrouvée chez les deux sœurs bien portantes du patient. Une puce à ADN (CytoII Affymetrix), réalisée sur les prélèvements sanguins de cette fratrie, permet de délimiter de façon précise une large délétion de 8.85 MB terminale en 3p25.3. Nous comparons la délétion de notre patient à celles précédemment décrites dans la littérature et discutons des gènes candidats potentiellement responsables des différents phénotypes observés chez des patients ayant une délétion 3p terminale.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P324 - DELETION 16P11.2 EN MOSAÏQUE CHEZ UNE MERE TRANSMISE A L'ETAT CONSTITUTIONNEL CHEZ UN ENFANT.

B Grisart (1), D Roland (1), Ch Verellen-Dumoulin (1)
1. Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies (Charleroi), Belgique

Une patiente de 18 ans présentant une obésité morbide, des troubles maniaco-dépressifs, un retard de langage et des troubles d'apprentissage a fait l'objet d'un bilan génétique. L'histoire clinique révèle un retard de langage dès l'âge de 2 ans et l'apparition d'une obésité progressive non corrélée à de l'hyperphagie vers l'âge de 3 ans. Par la suite, cette enfant présentera des difficultés scolaires et suit actuellement la filière de l'enseignement professionnel. Elle est traitée par la risperidone pour troubles bipolaires. A l'âge de 15 ans, elle présente une obésité morbide, une hypertension artérielle, une hypothyroïdie auto-immune, une insulino-résistance et un hyperandrogénisme. A l'examen clinique, on note, outre une obésité morbide (BMI 49), une dysmorphie faciale discrète avec de larges fentes palpébrales et la présence d'acanthosis nigricans et d'une adipomastie.

L'analyse par CGH sur micropuce Agilent (format ISCA 60K) a mis en évidence une délétion de 517 kb en 16p11.2. Dans un premier temps, cette délétion a été associée à l'autisme (voir notamment Slavotinek et al., 2008, Hum Mut 124 :1-17). D'autres études ont élargi le spectre phénotypique (Shiwani et al., 2009 ; J Med Genet 47(5): 332-341) considérant ce réarrangement comme un facteur de susceptibilité pour un retard de langage, un retard intellectuel, un retard moteur, des troubles du deficit de l'attention, des malformations congénitales et de l'épilepsie. Ce réarrangement a également été associé à une obésité progressive (Walters et al., 2010; Nature 463: 671-675). La délétion observée chez notre patiente est donc susceptible d'expliquer sa symptomatologie.

Cette délétion peut apparaître « de novo » ou être héritée d'un des deux parents (qui dans certains cas sont asymptomatiques ou plus légèrement atteints). La recherche de la délétion 16p11.2 a été réalisée chez les parents par PCR quantitative dans un premier temps. Le profil d'amplification obtenu chez la mère ne permettait pas d'établir clairement si celle-ci était porteuse de la deletion alors que cette dernière présentait cliniquement une obésité isolée. L'existence d'une délétion en 16p11.2 a pu être confirmée par l'analyse par CGH. Cependant, les valeurs de log2ratio obtenues (-0,356) indiquent la présence de cette délétion à l'état de mosaïque (fréquence calculée de 31%). L'analyse FISH a également montré la présence de cette délétion dans 42% des cellules sanguines.

L'étude de cette famille démontre que la délétion 16p11.2 peut exister à l'état de mosaïque dans le sang (resultant vraisemblablement d'un réarrangement mitotique au début de l'embryogenèse) et être transmise à l'état homoplasmique dans la descendance. Dans ce cas, le risque de récurrence dans la fraterie du cas index est difficilement évaluable, le taux de mosaïcisme germinal maternel pouvant être différent de celui observé sur les autres tissus tels que les cellules sanguines.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P325 - UNE FORME CLINIQUE ET CYTOGENETIQUE RARE DE SYNDROME DE TURNER : IMPLICATIONS POUR LE CONSEIL GENETIQUE

MF Portnoï (1), S Chantot-Bastaraud (1), S Christin-Maître (2), B Keren (3), B Carbonne (4), S Cabrol (5), MP Beaujard (1), G Quenum (6), X Pollet-Villard (1), N Joyé (1), C Hyon (7), JP Siffroi (7)

1. Service de Génétique et Embryologie médicales, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
2. Service d'Endocrinologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France
3. Service de Génétique, Centre Hospitalier Pitié-Salpétrière, Paris, France
4. Maternité, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France
5. Service d'Endocrinologie, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
6. Service de Cytogénétique, Hôpital Cochin, Paris, France
7. Service de Génétique et Embryologie médicales, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France

Dans un peu plus de la moitié des cas, le syndrome de Turner est associé à une mosaïque impliquant le chromosome X, normal ou remanié. Chez environ 6-7% des patientes une lignée minoritaire avec un chromosome Y est retrouvée. Des translocations (X ;Y), avec des points de cassure en Xp22.3 et Yq11 ou Yq12, ont également été rapportées. Elles se manifestent chez les filles par un phénotype normal, en dehors d'une petite taille, associée parfois à une déformation de Madelung, par perte de PAR1. Les garçons ont souvent des troubles liés à la monosomie Xp terminale. Une seule observation, à notre connaissance, décrit une translocation impliquant Xp et Yp, t (p22.3;p11), réalisant un dérivé pseudodicentrique stable, avec perte de SRY, chez une fille avec petite taille et syndrome de Léri-Weill. Nous rapportons un deuxième exemple de ce type de remaniement, avec point de cassure plus proximal en Xp, chez une patiente avec un phénotype turnérien. Le diagnostic a été fait à 11 ans, devant une petite taille isolée. Le caryotype sanguin et les techniques de FISH sur sang et sur prélèvement jugal montrent la présence d'une mosaïque, avec 75% des cellules à 45,X, 25 % à 46 chromosomes avec deux X, dont un remanié, constitué d'un chromosome dicentrique, porteur d'une translocation (X;Y)(p11.4;p11.2), réalisant une monosomie partielle Xp, avec présence d'un Y presque entier, comprenant Yq, le centromère, une partie du bras court, et perte de PAR1 et de SRY. Une étude en puces ADN est en cours pour préciser l'anomalie. La discussion d'une gonadectomie, pour prévenir la survenue d'un gonadoblastome, avait été posée et proposée. La survenue à 13 ans, d'une puberté et de règles spontanées, a fait surseoir la décision d'intervention. Des échographies ont montré la présence d'ovaires de petite taille. A 24 ans, la patiente a démarré sans difficulté une grossesse spontanée, actuellement au terme de 25SA et se déroulant normalement. Un diagnostic prénatal chromosomique sur liquide amniotique a montré un résultat un peu inattendu, puisque le fœtus, féminin, s'est révélé porteur d'une mosaïque différente de celle de sa mère, avec 47 chromosomes dans 65% des cellules, dont trois X, un normal et deux exemplaires du dérivé (X;Y) maternel, et 46 chromosomes dans 35% des cellules avec un X normal, et l'X remanié. Aucune lignée 45,X n'a été mise en évidence. Cette observation pose plusieurs questions, pour le clinicien, le cytogénéticien et la patiente, dont : la conduite à tenir devant la découverte de matériel Y dans le cadre d'un syndrome de Turner ; la répartition apparemment différente de la mosaïque dans le tissu ovarien, permettant le maintien des structures et de la fonction ovariennes ; les risques encourus au cours des grossesses chez les patientes turneriennes ; le mécanisme à l' origine du résultat cytogénétique fœtal, pouvant sans doute être expliqué par une malségrégation en méiose II de l'X remanié ; enfin, le devenir et le pronostic du futur enfant.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P326 - ETUDE DE L'EXPRESSION DU GENE MEST DANS LES VILLOSITES CHORIALES DE FŒTUS TRISOMIQUES 21

W Ayed (1), S Kémény (2), C Goumy (2), E Eymard-Pierre (2), P Combes (2), C Pebrel-Richard (2), A Monnier (2), A Tchirkov (2), P Vago (2), L Gouas (2)

1. Laboratoire d'Histologie et de Cytogénétique Médicale, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
2. Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France

Introduction :La trisomie 21 (T21), responsable du syndrome de Down, est l'étiologie chromosomique la plus fréquente du retard mental. Dans des cellules trisomiques 21 fœtales et adultes, il a été montré qu'il existait une dérégulation transcriptionnelle secondaire de gènes situés sur des chromosomes disomiques. Parmi ces gènes, MEST, situé en 7q32 et codant deux isoformes (isoformes 1 et 2), a été trouvé treize fois plus exprimé dans des cellules de villosités choriales (VC) de fœtus trisomiques 21 que dans des cellules contrôles.

Objectif : Vérifier la surexpression du gène MEST dans les cellules en culture de VC de fœtus T21 et déterminer la part de chaque isoforme dans cette surexpression.

Matériels et méthodes : Une RT-PCR quantitative (LightCycler ® 2.0, SYBRGreen, Roche Diagnostics) utilisant un couple d'amorces ciblant indifféremment les isoformes 1 et 2 (exon 8-9) et un couple spécifique pour chacune des isoformes (exon 1c-2 pour isoforme 1 et exon 1a-2 pour isoforme 2) a été réalisée à partir des ARN totaux extraits de cellules en culture de VC de 19 et 11 fœtus T21 et euploïdes, respectivement. Pour la quantification relative, le modèle de Pfaffl et al (2001), qui tient compte des efficacités réelles d'amplifications du gène cible et des gènes de référence (SDHA et YWHAZ), a été utilisé. Le niveau d'expression relatif a été comparé entre les deux groupes par le test de Mann-Whitney-Wilcoxon.

Résultats : Nous observons une surexpression du gène MEST dans les cellules de fœtus T21 ($p=0,036$). En revanche, le niveau d'expression de l'isoforme 1 n'est significativement pas différent de celui observé dans les cellules contrôles ($p=0,29$), que ce soit pour les filles ou les garçons ($p=0,16$ et $p=0,91$, respectivement). La quantification de l'isoforme 2 est en cours.

Conclusion : Nous confirmons la surexpression du gène MEST dans les cellules de VC de fœtus T21 après culture cellulaire. Dans le placenta, l'isoforme 1 est soumise à empreinte maternelle (expression monoallélique d'origine paternelle) tandis que l'isoforme 2 a une expression variable (mono- et parfois bi-allélique). En absence d'une surexpression de l'isoforme 1 dans les cellules en culture de VC T21, il est possible que la surexpression de MEST soit la conséquence d'une surproduction du transcrit de l'isoforme 2.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P327 - TROUBLES DE LA REPRODUCTION ET ANOMALIES CHROMOSOMIQUES AUTOSOMALES

N ABIDLI (1), A AMOURI (1), W AYED (1), N BOUAYED ABDELMOULA (2), H GUERMANI (1), L HALOUANI (3), M KHROUF (3), O KILANI (1), F ZHIOUA (4)

1. Laboratoire de CYTOGENETIQUE, Institut Pasteur, Tunis, Tunisie
2. Laboratoire d'Histologie-embryologie, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie
3. Centre de la reproduction, Clinique les Jasmins, Tunis, Tunisie
4. Unité de procréation médicalement assistée (PMA), Hopital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie

Chez les couples avec troubles de la reproduction, l'incidence des anomalies chromosomiques parentales est supérieure par rapport à celle de la population générale. Les translocations réciproques entre autosomes sont parmi les remaniements les plus fréquents. Elles sont généralement équilibrées mais sont responsables de la production de gamètes déséquilibrés à l'origine de pertes fœtales, de perturbation de la spermatogenèse et d'échecs de tentatives de techniques de PMA (procréation médicalement assistée).

Nous rapportons dans cette étude les observations de 20 cas d'anomalies autosomales de structure découvertes au cours de l'exploration cytogénétique d'un trouble de la reproduction. Il s'agit de 12 patients porteurs d'une translocation réciproque (6 hommes et 6 femmes), 7 cas de translocations robertsoniennes (6 hommes et une femme) et un cas d'inversion péricentrique d'un chromosome 10.

A partir de ces observations, nous discuterons l'importance de la réalisation d'un caryotype au cours du bilan d'infertilité du couple, encore non systématique dans notre environnement. La découverte d'une anomalie chromosomique autosomale impose un conseil génétique et éventuellement l'indication d'un diagnostic préimplantatoire et/ou prénatal.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P328 - MICRO REARRANGEMENTS GENOMIQUES DE IL1RAPL1 ET DEFICIENCE INTELLECTUELLE LIEE AU CHROMOSOME X

A Ali Khan (1), M Béri-Dexheimer (1), M Valduga (2), E Flori (3), M Vibert (4), C Thauvin-Robinet (5), P Callier (6), F Mugneret (6), D Amsallem (7), V Roze (8), JL Bresson (8), C Bonnet (1), P Jonveaux (1)

1. Service de Génétique, CHU Nancy et EA 4368 Université de Lorraine, Vandoeuvre-les-Nancy, France
2. Service de Génétique, CHU Nancy Université de Lorraine, Vandoeuvre les Nancy, France
3. laboratoire de Cytogénétique, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Service de Génétique, Hopital Maternité, Metz, France
5. Service de Génétique, CHU de Dijon, Dijon, France
6. laboratoire de Cytogénétique, CHU de Dijon, Dijon, France
7. Service de neuropédaitrie, CHU de Besançon, Besançon, France
8. laboratoire de Cytogénétique, CHU de Besançon, Besançon, France

La déficience intellectuelle (DI) touche 2% de la population. Plus de 90 gènes et 84 loci ont été identifiés à ce jour sur le chromosome X et sont responsables de 10% des cas de déficience intellectuelle syndromique ou non.

Dans notre cohorte de 1960 patients ayant bénéficié d'une analyse chromosomique sur microréseau dans le cadre d'un diagnostic étiologique de DI et/ou malformation congénitale, nous rapportons l'observation de quatre patients ayant un réarrangement impliquant la région Xp21.3p21.2, et englobant le gène IL1RAPL1. Le premier enfant, un garçon de trois ans atteint de retard psychomoteur léger, présente une duplication des exons 2 et 3 de ce gène, héritée de sa mère qui a par ailleurs un phénotype normal et chez laquelle le profil d'inactivation de l'X n'est pas biaisé. Deux garçons, de neuf ans et dix-sept ans respectivement, atteints d'une DI modérée sont porteurs l'un d'une délétion de l'exon 3 et l'autre d'une duplication des exons 7 à 11 d'IL1RAPL1. Cette dernière duplication est transmise par la mère sans phénotype associé. Le dernier cas est une jeune fille de vingt ans avec une DI sévère associée à un autisme et porteuse d'une délétion de novo de 3,5Mb englobant le gène IL1RAPL1. Le profil d'inactivation de l'X est aléatoire chez celle-ci.

Le gène IL1RAPL1 composé de 11 exons code la protéine interleukin 1 receptor accessory protein-like 1 constituée de 696 acides aminés et comportant trois domaines extracellulaires immunoglobulin-like (Ig-like), un domaine transmembranaire et un domaine intracellulaire Toll/IL-1R homology (domaine TIR). Ce gène est fortement exprimé dans le cerveau en période postnatale et régule la formation des synapses neuronales excitatrices via sa liaison par son domaine Ig-like avec la tyrosine phosphatase delta (PTPδ). Par ailleurs le domaine TIR réagit avec Neuronal calcium sensor protein (NCS1) par une activité N-type voltage gated calcium channel (VGCC).

Des réarrangements de ce gène ont été associés à un DI non syndromique liée à l'X : inversion péricentrique de l'X conduisant à une interruption du gène, délétions, duplication, mutations ponctuelles, indiquant que la région Xp21 est un point chaud de recombinaisons liées à la présence de duplications segmentaires.

Seule une duplication partielle d'IL1RAPL1 à l'origine d'une DI a été rapportée dans la littérature à ce jour. Nous rapportons ici deux cas de duplications intragéniques d'IL1RAPL1 touchant les exons codant les deux domaines Ig-like (exons 2à8) et TIR (exons 10à11) de la protéine. Ces altérations intragéniques modifient probablement la structure et donc une perte de fonction probable, expliquant la DI.

Le phénotype plus sévère décrit chez la dernière patiente résulte d'un syndrome de gènes contigus puisque six gènes sont délétés. Tous ces remaniements soulignent l'importance de ce gène dans le développement neuronal et dans les capacités d'apprentissage chez l'homme.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P329 - SYNDROME D'ANEUPLOÏDIE EN MOSAÏQUE : A PROPOS D'UNE OBSERVATION

L kraoua (1), M Chaabouni (1), M Trabelsi (1), S Hizem (1), F Maazoul (1), L Ben Jemaa (1), H Chaabouni (1)
1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

L'aneuploïdie en mosaïque est une prédisposition rare à la non-disjonction mitotique; elle conduit à un taux élevé d'aneuploïdies diverses principalement sous forme de monosomies et de trisomies. Jusqu'à ce jour, une quarantaine de cas ont été décrits dans la littérature. Le phénotype des personnes atteintes est assez constant : un retard de croissance (100%), une microcéphalie (93%), un retard mental (72%), et des anomalies du système nerveux central (30%). Le risque de cancer (rhabdomyosarcome, tumeur de Wilms ou leucémies) est élevé (40%). Cette anomalie se transmet sous un mode autosomique récessif. Des mutations du gène BUB1B et plus récemment du gène CEP75 ont été impliquées dans ce syndrome.

Nous rapportons le cas d'une fille âgée de 25 ans, née de parents apparentés, adressée à notre service pour retard de croissance et insuffisance ovarienne périphérique. L'interrogatoire a montré un développement psychomoteur et un intellect normaux. A l'examen, elle avait une taille à 124 cm (- 7DS), un poids à 46kg (-1DS) et un PC à 54cm (-0,8DS), une légère dysmorphie faciale, une fragilité dentaire, des membres courts, une brachydactylie et une brachymétatarsie. Le bilan hormonal a montré une FSH élevée. Le caryotype a révélé des aneuploïdies multiples dans 30/100 mitoses analysées à type d'hyperdiploïdies et de monosomies. Le diagnostic d'aneuploïdie en mosaïque a été alors retenu. La NFS, demandée à la recherche de leucémie, est revenue normale. Le bilan métabolique a montré des taux de glucose, de cholestérol et de triglycérides élevés. Ces perturbations biologiques n'ont pas été rapportées auparavant.

La consanguinité chez notre patiente est en faveur du mode de transmission autosomique récessif. L'étude du gène BUB1B et éventuellement du gène CEP75 est envisagée.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P330 - ASSOCIATION DE MALADIES CHROMOSOMIQUES : A PROPOS D'UNE OBSERVATION

L Ben Jemaa (1), H Chaabouni (1), M Chaabouni (1), R M'rad (1), I ouertani (1), M Trabelsi (1)
1. service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

La ségrégation de deux anomalies chromosomiques indépendantes dans la même famille est une situation rare.
Nous présentons une famille avec deux enfants porteurs de 2 anomalies chromosomiques à priori indépendantes et sans relation.
Il s'agit d'un couple qui consulte à la naissance de son deuxième enfant présentant une dysmorphie faciale associée à des équivalents convulsifs apparus à J2 de vie à type de boxing et de mâchonnement.
L'étude du caryotype sanguin du nouveau né retrouve un dérivatif du chromosome 18 qui s'est avéré être une trisomie 9p en rapport avec une t(9 ;18)(p12 ;p11.2) d'origine maternelle.
Au cours de la grossesse suivante, un caryotype fœtal a été réalisé et retrouve une formule normale 46,XY ce qui a permis de rassurer les parents, le fœtus n'ayant pas hérité de chromosomes remaniés.
Cependant, le suivi clinique systématique après la naissance, note un développement psychomoteur retardé avec une hypotonie axiale manifeste.
Le bilan étiologique de l'hypotonie comportant notamment une étude de la méthylation du chromosome 15 montre une disomie uniparentale paternelle (DUP pat) correspondant à un syndrome d'Angelman.
Le syndrome d'Angelman est une entité clinique liée à la perte de fonction d'un ou plusieurs gènes de la région 15q11-q13, soumise à une empreinte parentale. Le(s) gène(s) impliqué(s) s'exprime(nt) à partir du chromosome maternel. La perte de la région d'origine maternelle peut faire intervenir quatre mécanismes génétiques : une délétion maternelle, une disomie uniparentale paternelle, des anomalies de l'empreinte génétique ou une mutation du gène UBE3A (ubiquinin-protein ligase). L'étude du mécanisme moléculaire de cette DUP pat chez notre patient conclut à une origine microdélétionnelle.
La recherche, chez la mère, d'un remaniement chromosomique à l'origine de cette microdélétion à été exclu par FISH.
Il s'agit d'une famille ayant deux maladies chromosomiques différentes et indépendantes.
L'existence d'une translocation (9 ;18) aurait-elle favorisé la DUP du chromosome 15 ?
Le conseil génétique face à une telle situation est difficile puisqu'il faut tenir compte de chaque évènement séparément.
Les parents ont consulté récemment pour une nouvelle grossesse, le caryotype fœtal retrouve une formule normale 46,XY et l'étude de la région 15q11q13 par FISH ne montre pas de délétion.
Y a-t-il d'autres anomalies chromosomiques qui auraient pu passer inaperçues dans cette situation ?

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P331 - TROIS NOUVEAUX CAS DE DELETION 15Q21 EMPORTANT LE GENE FBN1 CHEZ DES PATIENTES ADRESSEES POUR UN RETARD GLOBAL DES ACQUISITIONS.

C Hyon (1), S Chantot-Bastaraud (2), A Afenjar (3), L Burglen (4), S Marlin (4), T Billette de Villemeur (3), MF Portnoï (5), JP Siffroi (5)

1. Service de Génétique et Embryologie Médicales - UMRS 933 - Plateau Mutualisé de Génétique Constitutionnelle du GHU Est, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
2. Service de Génétique et Embryologie Médicales - Plateau Mutualisé de Génétique Constitutionnelle du GHU Est, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
3. Service de Neuropediatrie et Pathologie du développement, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
4. Service de Génétique et Embryologie Médicales, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
5. Service de Génétique et Embryologie Médicales - UMRS 933, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France

Les délétions du chromosome 15 impliquant la région 15q21 et contenant le gène FBN1 sont rarement décrites. Seuls 5 cas ont été caractérisés à l'aide de techniques de cytogénétique moléculaire. Aucun des patients rapportés ne présentait un syndrome de Marfan typique. Nous présentons ici 3 nouveaux cas de délétion de cette région, mis en évidence par puce à ADN, chez des enfants initialement adressés pour un retard des acquisitions et qui ne présentaient pas de signes majeurs du syndrome de Marfan. A l'examen clinique, les 3 patientes présentaient des similitudes. Les mensurations à la naissance étaient toutes pratiquement normales. Une hypotonie néonatale était présente chez les 3 patientes. Le retard de développement a été également retrouvé chez les 3 patientes avec une acquisition de la marche tardive (7ans, 28 mois et, non acquise à 21 mois). A l'examen clinique, on note la présence d'extrémités longues et fines chez chacune des patientes. Deux d'entre elles présentaient une dysmorphie faciale associant un philtrum court, une lèvre supérieure arrondie avec une bouche ouverte ainsi qu'un synophrys. On observait également une hyperlaxité chez la 2ème patiente et un signe du pouce limite chez la 1ère patiente. Les explorations complémentaires réalisées ont montré des anomalies cardiaques chez 2 des 3 patientes à type de ballonisation de la valve mitrale +/- tricuspide. Les explorations cardiaques sont en cours chez la 3ème patiente. Une malformation oculaire associant une microphtalmie et une dysplasie rétinienne de l'œil droit a été retrouvée chez la 1ère patiente.

La présence du retard des acquisitions, chez les 3 enfants, a motivé la réalisation d'un caryotype. Celui-ci étant considéré comme normal, une étude approfondie par puce à ADN a permis de mettre en évidence une anomalie sur le chromosome 15 d'une taille de 4.8 Mb (patiente 2), 10.6 Mb (patiente 3) et de 12.3 Mb (patiente 1) dans la région 15q15.2q21.3. L'étude réalisée chez les parents a montré dans les trois cas que la délétion était survenue de novo. De nombreux gènes sont délétés dans la région pouvant expliquer le phénotype et en particulier le gène FBN1 dont les mutations hétérozygotes sont responsables du syndrome de Marfan.

En conclusion, la description de ces 3 nouveaux cas de délétion 15q21, emportant le gène FBN1, permet de préciser le phénotype de ce remaniement. Celui-ci associe un retard de développement, une dysmorphie faciale identifiable, des extrémités fines ainsi qu'une anomalie cardiaque : la ballonisation de la valve mitrale.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P332 - SPINA BIFIDA APERTA ET DELETION PARTIELLE DU GENE BRCA1
SPINA BIFIDA APERTA AND BRCA1 PARTIAL DELETION

C BONNET (1), M BRONNER (1), L LAMBERT (2), A ALI KHAN (1), M DEXHEIMER (1), J VIGNERON (2), P JONVEAUX (1)
1. Laboratoire de génétique, CHU de Nancy/ Faculté de Médecine de Nancy, Vandoeuvre-lès-Nancy, France
2. Génétique clinique, Maternité régionale de Nancy, Nancy, France

Nous rapportons l'observation d'un couple avec récidive de spina bifida aperta lors de 2 grossesses. Nous avons identifié par CGH-array, QMPSF et MLPA une délétion 17q21.31 hétérozygote contenant les exons 5 à 14 du gène de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire BRCA1 chez les deux fœtus, celle-ci est héritée de la mère. Cette délétion emporte plusieurs domaines fonctionnels de la protéine BRCA1. Il n'y a pas d'antécédents de cancers dans la famille.

Les atteintes homozygotes du gène BRCA1 chez la souris sont responsables de malformations chez les embryons de souris à type de spina bifida et de myéloméningocèle (Xu et al. 2001, King et al. 2007, Pulvers et al. 2009).

Nous avons donc recherché une mutation ponctuelle dans le gène BRCA1 sur le deuxième allèle afin d'expliquer le phénotype observé chez les 2 fœtus. Aucune mutation exonique n'a été détectée. Une mutation intronique héritée du père affectant l'épissage ne peut cependant être exclue et va être recherchée par étude de l'ARN du père.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P334 - TRANSLOCATION T(1;12)(P13.1;Q24.1) EQUILIBREE EN MOSAÏQUE DE NOVO DECOUVERTE CHEZ UN PATIENT AVEC UN TROUBLE ENVAHISSANT DU DEVELOPPEMENT. DE NOVO BALANCED RECIPROCAL TRANSLOCATION T(1;12)(P13.1;Q24.1) MOSAICISM IN A PATIENT WITH BEHAVIOR DISORDER.

G LeBel (1), M Vallée (1), S Côté (1), G Roy (2), J Gekas (1)

1. Service de Génétique Médicale, Département de Biologie Médicale, Centre Hospitalier Universitaire de Québec (CHUQ), Québec, Qc, Canada

2. Département de Pédiatrie, Centre Hospitalier Universitaire de Québec (CHUQ), Québec, Qc, Canada

Les réarrangements chromosomiques de structure en mosaïque sont rarement observés. Le faible taux de mosaïcisme rend souvent complexe leur recensement. En effet, ils sont retrouvés dans seulement 0,06 / 1000 des cas référés en cytogénétique (Opheim et al – 1995).

Lorsqu'une translocation équilibrée de novo est retrouvée, le risque de malformation ou de retard du développement est estimé à 6% (Warburton – 1991). Le plus souvent les troubles des patients sont en rapport avec un déséquilibre génomique aux points de cassure de la translocation. Cependant, un effet de position sans perte génomique est aussi possible.

Nous présentons un nouveau cas de remaniement équilibré en mosaïque de novo chez un patient de 6 ans ayant consulté en pédiatrie pour un trouble envahissant du développement. Le caryotype sanguin révèle une translocation t(1;12)(p13.1;q24.1) en mosaïque dans 18% des cellules. Cette anomalie a été confirmée par un deuxième prélèvement sur 20% des cellules. L'analyse des parents démontre un caryotype normal. Les études de FISH avec les sondes WCP 1 et WCP 12 permettent d'observer un réarrangement qui implique seulement ces 2 chromosomes. Une analyse de CGH a ensuite donné un résultat normal. Ceci implique que la translocation est équilibrée et qu'aucun autre déséquilibre génomique n'est présent. La disomie uniparentale pour les chromosomes impliqués démontre que l'enfant a hérité d'un chromosome de chaque parent. L'analyse des microsatellites prouve par ailleurs qu'il n'y a pas de chimérisme. L'examen de différents tissus chez ce patient permettra de mieux déterminer le niveau de mosaïcisme. L'effet de position sur les gènes impliqués aux points de cassure dans ce remaniement peut avoir un lien direct avec le phénotype observé. Des études en hybridation in-situ grâce à des sondes situées de part et d'autre des points de cassure de la translocation, complétés par des analyses par séquençage vont permettre d'identifier des gènes candidats en rapport avec le phénotype.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P335 - VARIABILITE PHENOTYPIQUE DU SYNDROME DU CRI DU CHAT FAMILIAL. PHENOTYPIC INTRA FAMILIAL VARIABILITY IN CRI DU CHAT SYNDROME.

I Ben Ayed (1), M Kesentini (2), N Gharbi (3), F Abdelhédi (4), N Belguith (5), H . Kamoun (4)

1. service de génétique médicale, hopital hédi chaker, sfax, Tunisie
2. génétique médicale, Hôpital Hedi Chaker, Sfax, Tunisie
3. service de génétique médicale, Hôpital Hedi Chaker ., Sfax, Tunisie
4. service de génétique médicale, Hôpital Hedi Chaker, Sfax, Tunisie
5. service de de génétique médicale., Hôpital Hedi Chaker ., Sfax, Tunisie

Le syndrome du Cri du Chat est une anomalie chromosomique due généralement à une délétion, de novo, de taille variable du bras court du chromosome 5 (5p-).

Dans 10 à 15% des cas le chromosome anormal est transmis par l'un des parents porteur d'une translocation équilibrée, impliquant le chromosome 5 et un autre chromosome ou plus rarement d'une inversion péricentrique du 5.

Nous rapportons l'observation d'une famille ayant deux enfants, de sexes différents, qui présentent le syndrome du Cri du Chat. Le garçon présente une dysmorphie faciale typique, une microcéphalie, un retard psychomoteur, un cri faible è la naissance qui s'est transformé en stridor, un retard mental sévère et des symptômes psychiatriques à type d'automutilation et d'hyperactivité. Pour sa sœur, elle a la même dysmorphie faciale mais un retard psychomoteur moins sévère.

Le caryotype standard en bande G réalisé pour les enfants était 46,XY,der(5)t(5;15)(p13;q26) chez le garçon et 46,XX,der(5)t(5;15)(p13;q26) chez la fille confirmant ainsi la délétion partielle du bras court du chromosome 5. Le caryotype des parents a révélé une translocation équilibrée 46, XY, t(5;15)(p13;q26) chez le père et un caryotype normal chez la mère.

Malgré qu'ils portent le même remaniement chromosomique, les deux patients présentent une variabilité phénotypique. Cette variabilité phénotypique intrafamiliale est décrite dans la littérature. Plusieurs travaux ont rapportés que des facteurs autres que la taille et la localisation de la délétion peuvent intervenir dans le développement psychomoteur.

Le recours à la comparative genomic hybridazation (CGH) permet de chercher des microréarrangements qui pourraient expliquer cette variabilité phénotypique.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P336 - ANOMALIES CHROMOSOMIQUES ET RETARD DE CROISSANCE INTRA-UTERIN : BILAN DE 11 ANS D'ETUDE

M kammoun (1), S Mougou (1), S Hidar (2), S Dimassi (1), M Bibi (2), H Elghzel (1), A Saad (1)

1. sevice de cytogénétique, biologie de la reproduction et biologie moléculaire, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie
2. Sevice de gynécologie obstétrique, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

Le retard de croissance intra utérin (RCIU) regroupe les anomalies et les cassures des courbes de croissance fœtale. Il peut être d'origine maternelle, placentaire ou fœtale secondaire à des anomalies géniques ou chromosomiques.

Notre travail porte sur les cas de RCIU recensés au laboratoire de cytogénétique, biologie moléculaire et biologie de la reproduction et ayant bénéficié d'un caryotype prénatal pendant la période allant du 01/01/2000 au 30/06/2011.

176 amniocentèses ont été réalisées et les caryotypes ont été normaux dans 154 cas (87%). Dans les 22 cas restants, nous avons identifié 6 cas de triploïdie, 5 cas de trisomie 18, 2 cas de trisomie 21 et 1 cas de trisomie 13 ainsi qu'un cas de monosomie X et un cas de chromosome y surnuméraire. Nous avons aussi identifié deux cas de délétions terminales 21(q22) et 4(p15), deux cas de monosomies partielles 13 interstitielle(q21q33) et terminale(q22qter) révélées par un RCIU associé à une holoprosencéphalie, un cas d' inversion péricentrique 5(p13;q11) découvert devant un RCIU associé à une malformation cardiaque et une artère ombilicale unique et un cas d'anneau du 15 à l'origine d'une délétion terminale 15(q26.1qter) chez un fœtus présentant une hernie diaphragmatique et des reins polykystiques.

Dans la majorité des cas de notre présente étude, le caryotype était normal. En effet, les aberrations chromosomiques fœtales à l'origine du RCIU peuvent être des anomalies de nombre ou de structure évidentes au caryotype standard ou des microremaniements nécessitant les techniques de cytogénétique moléculaire ciblée ou encore le caryotype moléculaire. Les anomalies chromosomiques pourraient toutefois être confinées au placenta. Dans les cas identifiés dans notre série nous avons pu rattacher le RCIU à des syndromes chromosomiques connus, tels que la triploïdie, les trisomies13, 18 et 21 ou la monosomie X et à des syndromes microdélétionnels comme le syndrome de Wolf Hirschhorn secondaire à la délétion 4p16.3 ou probablement une délétion 5p secondaire à l'inversion du chromosome 5. D'une manière intéressante, la délétion 15q26 emporte le gène IGF1R localisé en 15q26.3 et impliqué dans la croissance fœtale.

La majeure partie de notre cohorte apparemment sans anomalies chromosomiques nécessiterait une étude plus poussée utilisant les techniques de cytogénétique moléculaire ciblée et/ou globale fœtale et ou placentaire et ce du fait de la fréquence des anomalies chromosomiques associées au RCIU fœtales ou confinées au placenta.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P337 - CHROMOSOME 20 EN ANNEAU NON REVELE PAR UNE EPILEPSIE A PROPOS D'UNE OBSERVATION.

RING CHROMOSOME 20 SYNDROME NOT ASSOCIATED WITH EPILEPSY: ONE CASE REPORT.

I Ben Ayed (1), N Belguith (2), H Aloulou (3), N Gharbi (4), M Kesentini (5), M Hachicha (6), H . Kamoun (7)

1. service de génétique médicale, hopital hédi chaker, sfax, Tunisie
2. service de de génétique médicale., Hôpital Hedi Chaker ., Sfax, Tunisie
3. Service de pédiatrie, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
4. service de génétique médicale, Hôpital Hedi Chaker ., Sfax, Tunisie
5. génétique médicale, Hôpital Hedi Chaker, Sfax, Tunisie
6. Service de pédiatrie, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
7. service de génétique médicale, Hôpital Hedi Chaker, Sfax, Tunisie

L'anneau du chromosome 20 est une anomalie chromosomique rare. Elle est caractérisée par un phénotype particulier composé d'une épilepsie, des troubles du comportement, un retard psychomoteur et un déficit intellectuel de gravité variable.

La dysmorphie faciale est parfois présente mais non caractéristique à type de microcéphalie, strabisme, ensellure nasale large, micrognathisme et malformations auriculaires.

Nous rapportons l'observation d'une fille de deux ans six mois née prématurée avec notion d'apnées transitoires et ictère cholestasique à la période néonatale. L'examen trouve une dysmorphie faciale à type de microcéphalie, front étroit, racine du nez large, philtrum effacé et pieds équins, un retard de croissance à -3 DS avec un retard psychomoteur.

Un caryotype standard en bande G a révélé la présence d'un chromosome 20 en anneau homogène.

La revue de la littérature rapporte plus de 60 cas de l'anneau du 20. La plupart sont sporadiques avec un degré variable de mosaïcisme.

L'épilepsie se traduit par des crises partielles complexes, avec une progression fréquente vers des crises toniques ou tonico-cloniques généralisées. Des états de mal non convulsifs ont été rapportés. L'âge d'apparition varie entre trois et huit ans, mais elle peut se manifester dès la période néonatale.

Le Mécanisme responsable des crises épileptiques n'est pas complètement élucidé. Des réarrangements impliquant deux principaux gènes CHRNA4 et KCNQ2 ont été mis en cause.

Notre patiente n'a pas présenté jusque là de crises convulsives évidentes à part les apnées transitoires, mais un suivi régulier par EEG est recommandé.

Nous avons rapporté un cas de chromosome 20 en anneau sans épilepsie. Nous proposons de compléter les explorations par la réalisation des caryotypes des parents et une étude par cytogénétique moléculaire afin de spécifier le matériel chromosomique deleté et chercher une corrélation génotype-phénotype.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P338 - L'EXPRESSION PHENOTYPIQUE EN CAS D'INVERSION PERICENTRIQUE DU CHROMOSOME 9 : A PROPOS DE DEUX CAS CLINIQUES ET REVUE DE LITTERATURE
PHENOTYPIC EXPRESSIVITY IN PERICENTRIC INVERSION OF CHROMOSOME 9 : CASE REPORTS AND REVIEW OF LITTERATURE

N Serbati (1), H DEHBI (1), G Benjelloun (2), S Nadifi (1)

1. Laboratoire de génétique médicale, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc
2. Service de Pédo-psychiatrie- Hôpital d'enfants, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc

Les anomalies chromosomiques sont la principale cause des avortements spontanés prématurés. Elles peuvent être de nombre ou de structure. Généralement dues à une non-disjonction méiotique ou à des cassures chromosomiques suivis de réarrangements inadaptés.
Il existe plusieurs types d'anomalies chromosomiques de structure (translocation, délétion, inversion, isochromosome…) et qui peuvent être équilibrées ou non. Parmi elles, l'inversion péricentrique du chromosome 9 est caractérisée par deux cassures de part et d'autre du centromère suivies d'un retournement et recollement du segment cassé.
Nous présentons ici le cas de deux enfants qui présente un retard mental, dysmorphie faciale. Le caryotype a objectivé une inversion péricentrique du chromosome 9 [inv(9) (p11q13)].
L'inversion péricentrique du chromosome 9 [(inv(9)(p11q13)] existe chez un sujet pour 400 naissances environ, avec de grandes variations géographiques. Notre revue bibliographique montre que l'expression phénotypique de cette anomalie est très controversée ; elle peut provoquer des fausses couches spontanées, parfois une stérilité. Des cas de schizophrénie et de retard mental ont été rapportés.
A travers les cas présentés, nous essayons d'éclairer les cliniciens sur les différentes conséquences phénotypiques liées à cette anomalie chromosomique ainsi que le conseil génétique qui peut s'avérer très difficile.

Mots clé : Inversion péricentrique, chromosome 9, retard mental, expression phénotypique, conseil génétique

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P339 - LES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES AU CHU HASSAN II DE FES. A PROPOS DE 400 CARYOTYPES.

L BOUGUENOUCH (1), I SAMRI (1), I EL OTMANI (1), H HAMDAOUI (1), H SAYEL (1), S TRHANINT (1), S BENNIS (1), K OULDIM (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique. Laboratoire centrale d'analyses Médicales, Centre Hospitalier Universitaire HASSAN II, FES MAROC, FES, Maroc

Les anomalies chromosomiques constitutionnelles déséquilibrées ont le plus souvent un retentissement phénotypique et parfois assez caractéristique pour qu'on le suspecte à l'examen clinique. Leur diagnostic peut être confirmé par caryotype sur lymphocytes sanguins et permet l'observation et la classification des chromosomes au stade de métaphase ou de prométaphase.

Nous avons réalisé dans notre laboratoire 400 caryotypes constitutionnels du mois de Septembre 2009 au 30 Septembre 2011 pour diverses indications.

La dysmorphie représente la première indication du caryotype (38%), suivi du retard statural (12%), la suspicion clinique de trisomie 21 (12%), les troubles de différenciation sexuelle (11%), le retard mental (10%), la maladie abortive (9,5%), l'autisme (4,5%) et les azoospermies (3%). Nous avons ainsi pu recenser 70 anomalies chromosomiques. La trisomie 21 représente à elle seule 45% et les anomalies des gonosomes représentent 44%. Les anomalies de structure des autosomes ont été diagnostiquées chez 11% des patients. Lors congres ont présentera les dernières mises à jours.

La réalisation d'un caryotype, lorsqu'il montre une anomalie chromosomique permet d'établir ou de confirmer un diagnostic, de prodiguer un conseil génétique adéquat aux parents et d'économiser pour le système de santé des frais excessifs d'hospitalisations et d'investigations non justifiées.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P340 - LES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES DE STRUCTURE DIAGNOSTIQUEES AU SEIN DE L'UNITE DE GENETIQUE MEDICALE DU CHU HASSAN II DE FES

H HAMDAOUI (1), I SAMRI (1), L BOUGUENOUCH (1), I EL OTMANI (1), K OULDIM (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique. Laboratoire centrale d'analyses Médicales, Centre Hospitalier Universitaire HASSAN II, FES MAROC, FES, Maroc

Les anomalies de structure, sont la conséquence de cassures chromosomiques suivies ou non de recollements anormaux. Elles peuvent être équilibrées ou non équilibrées Les anomalies de structure équilibrées sont sans conséquences phénotypiques sur le sujet qui les portent, mais elles peuvent entraîner à la méiose des gamètes déséquilibrés et donc des zygotes anormaux. Les anomalies de structure non équilibrées peuvent survenir de novo ou être la conséquence d'un remaniement équilibré chez un parent. Les anomalies non équilibrées engendrent des trisomies ou des monosomies partielles. Les anomalies de structures peuvent toucher un chromosome, deux chromosomes (homologues ou non) ou plus.

Nous rapportons à travers notre série de 400 caryotypes, 10 cas d'anomalies chromosomique de structure. Un isochromosome X a été retrouvé chez 5 patientes avec un tableau clinique évocateur du syndrome du Turner, une triple translocation impliquant les chromosomes 1,3 et 18 chez un enfant de 6 ans avec retard mental et épilepsie. Une triple translocation impliquant les chromosomes 4, 12 et 14, chez une femme de 22 ans ayant eu 5 fausses couches. Une translocation familiale impliquant les chromosome 8 et 18, s'est révélé suite au caryotype d'un un nouveau-né présentant une dysmorphie associée à une cardiopathie congénitale.On a également pu identifié une délétion du bras court du chromosome 5 (5p-) chez un nourrisson avec un tableau clinique du syndrome du cri du chat ainsi qu'un chromosome 13 en anneau chez un nourrisson avec un syndrome dysmorphique et épilepsie.

A travers ces observations, nous mettons en valeurs le rôle de la cytogénétique dans le diagnostic des syndromes dysmorphiques ainsi que dans la maladie abortive d'origine chromosomique. Ceci permet grâce au diagnostic précis une prise en charge personnalisée du patient, un conseil génétique adéquat pour sa famille et une économie de santé en évitant des investigations inutiles et donc une orientation des différentes approches thérapeutiques médicales et chirurgicales.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P341 - PREMIERE OBSERVATION MONDIALE D'UNE DOUBLE ANEUPLOÏDIE 48,XXX,+18/47,XX,+18

S TRHANINT (1), L BOUGUENOUCH (1), I SAMRI (1), H HAMDAOUI (1), I EL OTMANI (1), S ATMANI (2), M HIDA (2), K OULDIM (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique. Laboratoire centrale d'analyses Médicales, Centre Hospitalier Universitaire HASSAN II, FES MAROC, FES, Maroc
2. Service de Pédiatrie CHU Hassan II Fès., Centre Hospitalier Universitaire HASSAN II, FES MAROC, FES, Maroc

La survenue d'une double aneuploïdie chez le même individu est un phénomène relativement rare. Nous rapportons le cas d'un nourrisson qui présentait cliniquement des signes de la trisomie 18 notamment une hypotrophie Hypotonie, une fente labio-palatine, une malformation cardiaque, une dysmorphie et des malformations congénitales. Elle a vécu pendant 2 mois. Le caryotype postnatal constitutionnel à mis en évidence un double trisomie en mosaïque : mos 48, XXX, 18 [5] / 47, XX, 18 [35].

L'apparition simultanée d'une double trisomie des chromosomes 18 et X est rare, la majorité des cas concernés ont été signalés dans la petite enfance (48, XXX, 18). Ce cas est le premier rapport d'une aneuploïdie en mosaïque impliquant deux chromosomes 18 et X.

Les aneuploïdies en mosaïque constituent une excellente occasion pour étudier les interactions chromosomiques ayant une incidence sur le phénotype. Elles sont dues à des non disjonctions mitotiques. La distribution des cellules aneuploïdes peuvent varier considérablement entre les différentes lignées cellulaires. Un contrôle génétique de la méiose chez les animaux est vérifié par de nombreux exemples de mutations qui prédisposent à la non-disjonction, mais n'a pas été complètement établie chez l'homme. Il sera intéressant dans le futur de s'intéresser aux mécanismes moléculaires des aneuploïdies afin de définir les différents facteurs prédisposant à la non-disjonction chez l'homme.

Compte tenu de la rareté de ce trouble (aneuploïdie double en mosaïque) et des rares données publiées le risque le phénotype et le conseil génétique sont très difficiles à établir.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P342 - L'HYBRIDATION IN SITU EN FLUORESCENCE, FISH (FLUORESCENT IN SITU HYBRIDIZATION) : EXPERIENCE DU CHU HASSAN II DE FES.

I SAMRI (1), L BOUGUENOUCH (1), H HAMDAOUI (1), I EL OTMANI (1), M HIDA (2), S BENNIS (1), K OULDIM (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique. Laboratoire centrale d'analyses Médicales, Centre Hospitalier Universitaire HASSAN II, FES MAROC, FES, Maroc

2. Service de Pédiatrie CHU Hassan II Fès., Centre Hospitalier Universitaire HASSAN II, FES MAROC, FES, Maroc

La cytogénétique moléculaire est née de la rencontre entre la biologie moléculaire et la cytogénétique conventionnelle, elle se situe à une échelle de résolution intermédiaire entre ces deux disciplines. La cytogénétique moléculaire d'apparition relativement récente dont l'outil principal est l hybridation in situ en fluorescence FISH (Fluorescent in Situ Hybridization) qui a révolutionné l'approche traditionnelle de la cytogénétique conventionnelle.

En FISH (Fluorescent in Situ Hybridization), l'outil principal de l'hybridation est le matériel génétique (chromosomes ou chromatine). Elle repose sur la propriété d'association spécifique des acides nucléiques de la sonde fluorescente avec des bases complémentaires (ADN cible).

Actuellement la technique FISH s'applique en routine dans plusieurs domaines : préimplantatoire, anténatal, postnatal constitutionnel, pathologie hémato-oncologique et pathologie tumoral.

Nous rapportons ainsi dans ce travail, l'expérience de notre unité en matière de cytogénétique moléculaire. Nous disposons actuellement des sondes de FISH les plus utilisées en pratique pédiatrique (Syndrome de Williams, Syndrome de la délétion 22q11, syndrome de Prader-Willi, syndrome d'Angelman…..), ainsi que la sonde SRY /CEP X, indispensable dans l'exploration des troubles de différenciation sexuelle. Nous avons pu effectuer 30 tests de FISH en postnatal constitutionnel, dont huit nous ont permis de poser un diagnostic précis.

Notre laboratoire utilise actuellement et de façon courante cette nouvelle technologie, permettant ainsi un diagnostic précis pour une meilleure prise en charge pédiatrique et un conseil génétique adéquat.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P343 - ANEMIE DE FANCONI AU CHU HASSAN II FES A PROPOS DE 3 OBSERVATIONS

H SAYEL (1), I SAMRI (1), L BOUGUENOUCH (1), I EL OTMANI (1), H HAMDAOUI (1), S BENMILOUD (2), M HIDA (2), S BENNIS (1), K OULDIM (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique. Laboratoire centrale d'analyses Médicales, Centre Hospitalier Universitaire HASSAN II, FES MAROC, FES, Maroc
2. Service de Pédiatrie CHU Hassan II Fès., Centre Hospitalier Universitaire HASSAN II, FES MAROC, FES, Maroc

L'anémie de Fanconi est une maladie autosomique récessive associée à une instabilité chromosomique, elle est marquée par une hétérogénéité phénotypique qui inclut une insuffisance médullaire, un syndrome malformatif variable, une prédisposition à développer des leucémies aiguës myéloïdes (LAM) et une hypersensibilité cellulaire aux agents pontant l'ADN. Le diagnostic est basé sur l'augmentation anormale du taux de cassures chromosomiques spontanées mais surtout, et de manière spécifique, sur une augmentation nette de ces cassures chromosomiques en présence d agents alkylants bifonctionnels, ce qui est le cas pour nos trois patients. Le conseil génétique rejoint celui des maladies autosomiques récessives.

Nous rapportons nos premières observations au CHU Hassan II confirmées par la mise en évidence d'une grande instabilité chromosomique après culture sous Mitomycine C en comparaison avec un témoin normal. Le but de cette communication affichée est la mise à jour de nos connaissances sur la génétique de l'Anémie de Fanconi et à travers ces trois observations nous illustrons le rôle de la cytogénétique dans l'orientation diagnostic et le conseil génétique pour une meilleure prise en charge aussi bien des enfants atteints que de leurs familles.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P344 - CYTOGENETIQUE CLASSIQUE ET MOLECULAIRE DES DYSGONOSOMIES AU CHU HASSAN II DE FES.

I EL OTMANI (1), L BOUGUENOUCH (1), I SAMRI (1), H HAMDAOUI (1), S ABOURAZAK (2), M HIDA (3), S BENNIS (1), K OULDIM (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique. Laboratoire centrale d'analyses Médicales, Centre Hospitalier Universitaire HASSAN II, FES MAROC, FES, Maroc
2. Service de Pédiatrie CHU Hassan II Fès., Centre Hospitalier Universitaire HASSAN II, FES MAROC, F, Maroc
3. Service de Pédiatrie CHU Hassan II Fès., Centre Hospitalier Universitaire HASSAN II, FES MAROC, FES, Maroc

Les dysgonosomies sont représentées par toutes anomalies des chromosomes sexuels X et Y .Nous rapportons notre première série des dysgonosomies colligée (du mois d'octobre 2009 au mois d'octobre 2011) à l'unité de Génétique Médicale et d'Oncogénétique au CHU Hassan II de Fès.

Les principales dysgonosomies sont représentées par le syndrome de Klinfelter qui regroupe un ensemble d'anomalies chromosomiques caractérisées par la présence d'au moins un chromosome X supplémentaire dans un caryotype masculin 46,XY et le syndrome de Turner qui est lié à l'absence complète ou partielle d'un chromosome X et dont la monosomie du chromosome X ne résume pas la totalité des cas de ce syndrome, dans la moitié des cas il s'agit d'une mosaïque et/ou d'une anomalie de structure du chromosome. D'autres dysgonosomies moins fréquentes sont représentes par : double Y, Triple X…A côté de ces dysgonosomies, on peut être amené à observer une inversion de sexe chez des sujets à formules chromosomiques considérées normales : Hommes XX, Femmes XY.

Nous rapportons 22 observations : Syndrome de Klinefelter (n:7); Syndrome de Turner (n:11) avec une monosomie X (n:6), anomalies de structure : isochromosome X (n:3) , isochromosome X avec une monosomie X en mosaïque, Turner en mosaïque (chromosome Y en mosaïque) (n:1) ;un patient avec double Y (n:1); Trois Femmes XY (n:2).

Les moyens d'explorations cytogénétiques utilisés : caryotype métaphasique constitutionnel, FISH (Fluorecent In Situ Hybridization) : sondes utilisées « Sonde SRY Region (LSI SRY (Yp11.3) Spectrum Orange/CEP X Spectrum Green) » et la PCR multiplexe SRY/DXS1684.

A travers cette communication affichée nous passerons en revus nos différentes dysgonosomies (Syndrome de Klinefelter, Syndrome de Turner, le double Y) sous tous leurs aspects : circonstances de découverte, manifestations cliniques, prise en charge et conseil génétique).

Le diagnostic cytogénétique classique et moléculaire des dysgonosomies permet une meilleure prise en charge médicale et/ou chirurgicale et un conseil génétique adéquat.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P345 - CARACTERISATION DES POINTS DE CASSURE D'UNE TRANSLOCATION T(X;7)(Q11.2;P11.2) ASSOCIEE A UNE HYPOMELANOSE D'ITO

S Toujani (1), S Brisset (2), M Tardieu (3), G Rousseau (2), V Gautier (1), G Tachdjian (4)

1. (1) Histologie, Embryologie, Cytogénétique, Antoine Béclère, Hôpitaux Universitaires Paris sud, AP-HP, Clamart, France
2. (1) Histologie, Embryologie, Cytogénétique, Antoine Béclère, Hôpitaux Universitaires Paris sud, AP-HP, Clamart, France
3. (3) Neuropédiatrie, Hôpital Bicêtre, Hôpitaux Universitaires Paris sud, AP-HP, Le Kremlin Bicêtre, France
4. (1) Histologie, Embryologie, Cytogénétique; (2) Inserm U935 Villejuif, Antoine Béclère, Hôpitaux Universitaires Paris sud, AP-HP, Clamart, France

L'hypomélanose d'Ito (HMI) est une affection caractérisée par une hypopigmentation suivant les lignes de Blaschko associée à une atteinte multi systémique, en particulier neurologique et musculaire. Dans l'HMI le profil des anomalies chromosomiques, très hétérogène, associe des translocations X/autosomes dans 60% des cas. Dans ce cas, deux hypothèses ont été avancées pour expliquer le phénotype. Pour certains auteurs, les signes cliniques seraient la conséquence d'un biais d'inactivation de l'X transloqué. Pour d'autres, le tableau clinique résulterait de l'interruption d'un gène aux points de cassures de la translocation. Nous rapportons la caractérisation des points de cassure d'une translocation t(X;7)(q11.2;p11.2) chez une enfant âgée de 3 ans et 9 mois adressée pour un retard psychomoteur et des anomalies de la pigmentation. Les analyses cytogénétiques conventionnelle et moléculaire effectuées à partir des lymphocytes sanguins et des fibroblastes de zones de peau normale et hypopigmentée ont montré sur toutes les cellules analysées une translocation réciproque t(X;7)(q12;p12). Les caryotypes des parents étaient normaux. L'étude en CGH array oligonucléotidique Agilent 105K a montré l'absence de déséquilibres aux points de cassures. L'inactivation de l'X, réalisée sur des lymphocytes cultivés en présence de BrdU, a montré une inactivation de l'X normal dans 100% des cellules. L'hybridation in situ avec des BACs a permis de préciser les points de cassure : sur le 7p11.2 dans l'intervalle 56.76-56.91 Mb dépourvu de séquences codantes et sur l'Xq11.2 dans le segment 63.45-63.58 Mb contenant le gène myotubularin-related protein 8 : MTMR8. Il s'agit de la première observation d'une t(X;7)(q11.2;p11.2) associée à une HMI. Dans la littérature 19 translocations X/autosome ont été rapportées. Dans ces cas, les autosomes impliqués étaient les chromosomes 4, 5, 9, 10, 13, 14, 15, 17, 18 et 22. Le point de cassure localisé en 7p11.2 n'implique ni gène ni microRNA. Dans la littérature, les points de cassure rapportés sur l'X sont répartis entre les régions Xp21 et Xq21. Dans notre cas, le point de cassure localisé en Xq11.2 passe par le gène MTMR8. Ce dernier code pour une protéine analogue à la myotubularine qui est le membre fondateur d'une famille protéique impliquée dans le développement neuromusculaire. Ainsi, la myopathie tubulaire liée à l'X et entraînant une hypotonie néonatale chez les garçons, est secondaire à des mutations de la myotubularine. Les mutations des gènes homologues MTMR13 et MTMR2 entraînent un phénotype de neuropathie Charcot-Marie-Tooth avec démyélinisation. Enfin, Appel et al. (2002) ont identifié dans la région critique d'une dermatose de transmission autosomique dominante, keratolytic winter erythema, un gène homologue de la myotubularine. Le cas rapporté ici suggère donc que le point de cassure sur l'Xq11.2 inactive le gène MTMR8 ou bien altère son expression et soit à l'origine de la symptomatologie.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P346 - ANALYSE CYTOGENETIQUE DE CELLULES PLURIPOTENTES INDUITES (IPS) ISSUES DE CELLULES SENESCENTES DE PERSONNES AGEES

F Becker (1), L Lapasset (2), G Lefort (3), JM Lemaitre (2), F Pellestor (3), J Puechberty (3), P Sarda (3)

1. Institut de Recherche en Biothérapie, Hôpital St Eloi, CHRU Montpellier, Montpellier, France
2. Equipe Avenir INSERM « Plasticité du Génome et Vieillissement », Institut de Génomique Fonctionnelle, Montpellier, France
3. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, Montpellier, France

Les cellules pluripotentes induites (iPS) apparaissent comme une formidable alternative aux cellules souches embryonnaires humaines (CSEh), car issues de la reprogrammation de cellules somatiques adultes. Toutefois, les mêmes réserves s'appliquent à ces cellules en terme de contrôle de qualité et d'utilisation thérapeutique, compte tenu des problèmes d'instabilité chromosomique, d'altérations épigénétiques et de tumorigénicité, posés par la production in vitro de ces cellules. Un axe de recherche important dans le domaine des iPS concerne la reprogrammation des cellules sénescentes de sujets âgés. Nous avons réalisé l'analyse cytogénétique de 3 lignées iPS issues de fibroblastes provenant de personnes âgées (74 et 96 ans). Au cours de différents passages en culture par dissection manuelle, des cellules de ces 3 lignées ont été préparées pour un examen cytogénétique, réalisé en bandes R. Vingt-cinq métaphases ont été caryotypées pour chaque lignée, permettant d'établir le caryotype de ces lignées comme étant un caryotype normal 46,XY. Cette analyse a été complétée par une étude comparative avec 2 lignées CSEh, de la taille des régions télomériques des chromosomes, en utilisant in situ des sondes PNA pantélomériques fluorescentes et le système d'acquisition et d'analyse d'images ISI de Métasystems. Une augmentation significative (P

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P347 - ANALYSIS OF THE SRY GENE IN A FAMILIAL CASE OF XY FEMALE SYNDROME

N Abdelmoula Bouayed (1), R Louati (2), T Rebai (2)

1. Laboratoire d'histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie

We report a North African family in which there are five 46,XY sisters with familial occurrence's of Swyer syndrome. Two sisters aged 32 and 36 years old were referred to us because of, respectively, primary amenorrhoea and hypo fertility. The first sister had fully developed feminized phenotype with normal breast development, and normal distribution of pubic and axillary hairs. Gynecologic and pelvic ultrasonographic examinations revealed a normal vagina and cervix but a small uterus with streak gonads. She had also some dysmorphic features such as short neck, malformed ears and scoliosis. The second sister had no dysmorphic features. The external and internal genitalia as well as secondary sexual characteristics resemble that of normal females. She conceived only a daughter and then developed secondary unexplained infertility.

Familial history revealed that their parents are consanguineous and did not conceive any son. They had five daughters who had primary amenorrhoea and five daughters who menstruated regularly and conceived female and male children.

Cytogenetic analysis with RHG banding showed 46,XY chromosomal constitution for the first case and 46,XX karyotype for the second. The presence of the Y-primers SRY (SY14), ZFX/Y, DAZ, DYS218, DYS224, DYS148 and DYS273 was investigated in the 46,XY woman and was confirmed. The SRY gene was amplified using 3 sets of oligonucleotide primers but no mutation was found. The four sisters harbouring primary amenorrhea and the father are recruited to collect DNA to identify causal mutation of this familial sex reversion, in the other genes of the sex determining cascade.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P348 - LA DELETION 1Q42-Q44 : UN NOUVEAU SYNDROME ASSOCIE A L'AGENESIE DU CORPS CALLEUX?

THE 1Q42-Q44 DELETION : A NEW SYNDROME ASSOCIATED WITH AGENESIS OF THE CORPUS CALLOSUM?

S Dimassi (1), S Mougou (1), I Belhadj Hamida (2), H Hannechi (1), N Gouider Khouja (3), A Saad (2)

1. Service de cytogénétique et de biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie
2. service de cytogénétique et de biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie
3. service de Neurologie pédiatrique, institut national de neurologie, Tunis, Tunisie

Les descriptions cliniques de patients présentant une délétion 1q42-q44 ont permis de définir un tableau clinique commun associant une hypotonie, un retard mental sévère, un retard de croissance intra-utérin suivi d'un retard de croissance post-natal, une microcéphalie d'aggravation progressive, une dysmorphie faciale évocatrice, des anomalies des mains et des pieds, une épilepsie, des anomalies de la ligne médiane incluant une agénésie ou hypoplasie du corps calleux, des anomalies cardiaques, gastro-oesophagiennes et urogénitales.

Notre patient est un garçon âgé de 3 ans issu d'un mariage non consanguin avec des antécédents de retard de croissance intra utérin. Il présente une dysmorphie faciale évocatrice la délétion 1q terminale, un hypospadias, un retard psychomoteur, des troubles du comportement, une malformation cardiaque à type de communication interventriculaire périmembraneuse restrictive associée à un rétrécissement pulmonaire modéré et une agénésie totale du corps calleux. Le caryotype standard d'une résolution de 400 bandes de ce patient n'a pas montré d'anomalie évidente. La CGH array a montré une délétion télomérique de 11,67Mb avec des points de cassure à 235500506 pb et à 247179291pb. L'hybridation in situ fluorescente (FISH) des télomères 1q a confirmé la délétion. Les caryotypes ainsi que la FISH par sondes télomériques du chromosome1 chez les parents n'ont pas montré d'anomalies.

La corrélation phénotypes génotypes des réarrangements distaux 1q42-q44 chez des patients porteurs de malformations du corps calleux a donné naissance à un grand débat quant à la région critique dont l'haploinsuffisance serait impliquée dans la microcéphalie postnatale et l'agénésie du corps calleux. 2 gènes ZNF238 et AKT3 ont été proposé en premier comme d'excellents candidats impliqués dans les anomalies du corps calleux. Une hypothèse qui a été infirmée chez les patients présentant des anomalies du corps calleux sans délétion de ces gènes. Une région critique de 360 Kb incluant les gènes (C1orf100, C1orf101), le gène PNAS4 ou PPPDE1 qui code pour une protéine pro-apoptotique intervenant durant la gastrulation et le gène ADSS codant pour une adénylosuccinate déshydrogénase jouant un rôle dans la voie de biosynthèse des purines.

Notre cas à l'étude vérifie cette deuxième hypothèse. Il pourrait contribuer à affiner les recherches visant à l'étude des gènes impliqués dans le développement cérébral afin de comprendre l'étiopathogénie des malformations cérébrales et d'orienter le diagnostic moléculaire.

mots clefs : agénésie du corps calleux, délétion 1q42-q44, CGH array, hybridation insitu fluoresecnte

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P349 - DELETION INTERSTITIELLE DE LA BANDE CHROMOSOMIQUE 2P21 AVEC DES ANOMALIES OCULAIRES. INSTERTITIAL DELETION OF CHROMOSOMAL BAND 2P21 WITH EYE ANOMALIES.

A Schneider (1), P Sarda (2), M Mathieu-Dramard (3), J Andrieux (4), A Receveur (5), M Tournaire (1), M Girard (1), P Blanchet (2), C Coubes (2), D Geneviève (2), E Haquet (2), L Pinson (2), M Willems (2), G Lefort (1), F Pellestor (1), S Taviaux (1), J Puechberty (2)

1. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Département de Génétique Médicale, Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, Hôpital Nord, Amiens, France
4. Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
5. Laboratoire de Biologie de la Reproduction et de Cytogénétique, Centre de Gynécologie Obstétrique, Amiens, France

Nous rapportons le cas d'un patient présentant des malformations congénitales multiples, notamment des anomalies oculaires bilatérales avec une délétion interstitielle 2p21 découverte sur analyse par puce à ADN.

Le patient est le troisième enfant d'un couple non apparenté sans antécédents familiaux particuliers. La grossesse s'est déroulée sans événement notable. A la naissance, l'enfant eutrophe de sexe masculin présentait des malformations congénitales multiples incluant un lipome lombaire, un myéloméningocèle, une luxation congénitale de la hanche droite, une cryptorchidie droite et une malformation oculaire bilatérale complexe. Cette malformation oculaire concernait les chambres antérieure et postérieure de l'œil et fut interprétée comme une sclérodermie de la cornée associée avec une atrophie choriorétinienne. Un déficit en hormone de croissance a été découvert à l'âge de 7 ans et une hormonothérapie a été instaurée.

A la suite d'une consultation, à l'âge de 17 ans, dans notre département de génétique médicale, l'examen clinique montre une dysmorphie faciale (face triangulaire, ensellure nasale proéminente, dysplasie auriculaire, microrétrognathie, anomalies dentaires) et une hypoplasie unguéale. Le patient est actuellement aveugle et n'a pas de retard mental. L'évolution est marquée par une scoliose sévère corrigée chirurgicalement et une paraplégie, séquelle de la chirurgie du lipome lombaire.

Les études cytogénétiques classiques montrent un caryotype sans anomalie décelée. L'analyse en biologie moléculaire des gènes FOXC1, PITX2 et PAX6 ne retrouve aucune mutation. L'analyse par puce à ADN (SNP6.0 Affymetrix) met en évidence une délétion de novo de 1,46 Mb de la région 2p21.

A ce jour, très peu de délétions 2p21 "pures" sont rapportées dans la littérature et enregistrées dans les bases de données génétiques. L'expression phénotypique de la délétion 2p21 chez notre patient concerne principalement le système oculaire et quelques traits dysmorphiques. Parmi les 11 gènes identifiés dans la région délétée, il n'y a pas de gène candidat évident pour les anomalies oculaires. Cependant le gène SIX3 (SIX homeobox 3), localisé approximativement à une distance de 375kb en aval de la délétion, est impliqué dans le développement de l'œil chez la souris et les mutations de ce gène sont une des causes de l'holoprosencéphalie chez l'Homme. Nous comparons le phénotype de plusieurs patients avec des délétions chevauchant notre délétion et présentant ou non des anomalies oculaires. Cette comparaison nous fait émettre l'hypothèse qu'une dysrégulation du gène SIX3 par la délétion adjacente pourrait être la cause des anomalies oculaires chez notre patient et, de ce fait, qu'une région régulatrice, emportée par la délétion, se trouverait loin en amont de ce gène.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P350 - LA DYSGENESIE GONADIQUE PURE 46,XY DANS SA FORME FAMILIALE, ASSOCIEE A UN HYPOGONADISME HYPOGONADOTROPE: UNE EVENTUELLE MUTATION DU GENE DAX1 OU DHH ?

N Abdelmoula Bouayed (1), R Louati (2), T Rebai (2)
1. Laboratoire d'histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie

La dysgénésie gonadique pure associant un phénotype féminin, un caryotype XY et la présence d'un utérus est habituellement diagnostiqué à l'adolescence lors de l'exploration d'une aménorrhée primaire.
Nous rapportons dans ce travail, les observations de 3 soeurs tunisiennes chez les quelles est découverte la formule 46,XY associée à un hypogonadisme hypogonadotrope. Le diagnostic chez le cas index a été fait tardivement à l'age de 26 ans devant l'exploration cytogénétique d'aménorrhée primaire longtemps considérée comme idiopathique. L'exploration hormonale a mis en évidence des taux de FSH et de LH concordants avec un hypogonadisme hypogonadotrope. L'étude cytogénétique a mis en évidence une formule masculine 46,XY. L'étude génétique a été complétée par l'analyse moléculaire du chromosome Y avec mise en évidence des séquences spécifiques des bras court (SRY) et long de l'Y. Le conseil génétique a permis de poursuivre l'enquête familiale qui a décelé les deux autres sœurs (plus aînées que le cas index) atteintes de la même anomalie du déterminisme du sexe avec orientation vers une surveillance régulière des gonades (risque de dégénérescence en gonadoblastome). Par ailleurs, aucune anomalie cytogénétique n'a été révélée ni chez les parents consanguins de second degré ni le frère unique encore enfant. Le mode d'hérédité de la DSD décrite dans cette famille semble être à transmission récessive liée à l'X ou autosomique. L'association avec l'hypogonadisme hypogonadotrope oriente vers le gène DAX1 (NR0B1) ou le gène DHH qui comportent respectivement 2 et 3 exons. Le séquençage de ces deux gènes est entamé ce qui permettrait de déceler la mutation causale.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P351 - MICRODELETION 1Q44: LA CARACTERISATION MOLECULAIRE CHEZ 11 PATIENTS REVELE TROIS GENES CANDIDATS AU RETARD MENTAL ET EPILEPSIE

C Beneteau (1), O Pichon (1), E Flori (2), B Isidor (1), MA Delrue (3), B Arveiler (3), M Béri (4), C Bonnet (4), D Cailley (3), M Dolik-Michno (5), L Duboscq-Bidot (6), C Dubourg (7), A Dusser (8), D Lacombe (3), C Metay (9), L Pasquier (10), A Paubel (11), F Popelard (12), C Soussi-Zander (5), G Thierry (1), L Thuresson (5), A Toutain (11), BBA de Vries (13), B Van Bon (13), P Jonveaux (4), A David (1), C Le Caignec (1)

1. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. Service de cytogénétique, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
3. Service de génétique médicale, Hopital Pellegrin, Bordeaux, France
4. Laboratoire de génétique, CHU, Nancy, France
5. Medical genetics department, Uppsala university, Uppsala, Suède
6. UMR_S915, Inserm, Nantes, France
7. Service de génétique médicale, CHU de Rennes, Rennes, France
8. Service de nerologie pédiatrique, CHU Bicetre, Le Kremlin Bicetre, France
9. Plateforme Génétique Constitutionnelle CGH array, Hopital Henri Mondor, Creteil, France
10. Service de génétique médicale, CHU Rennes, Rennes, France
11. Service de génétique médicale, CHU de Tours, Tours, France
12. Service de pédiatrie, Centre Hospitalier Jean Monnet, Epinal, France
13. Medical genetics department, Radbout University Nijmegen Medical Center, Nijmegen, Pays-bas

Les patients avec microdélétion interstitielle 1q43q44 présentent un retard mental, une microcéphalie, une dysmorphie cranio-faciale, une épilepsie, des anomalies des membres et du corps calleux. Cependant, le lien entre les gènes délétés et ces différents signes cliniques reste cependant largement inexpliqué. Nous avons étudié 11 patients présentant une microdélétion 1q44 de novo. Tous les patients présentent un retard mental modéré à sévère, une épilepsie et une dysmorphie cranio-faciale non spécifique. Par tiling-path CGH array, nous avons obtenu une région minimale critique de 188 kb contenant deux gènes codants HNRNPU et FAM36A – et un gène non codant - NCRNA0201. Nous avons montré que ces trois gènes étaient exprimés de façon ubiquitaire mais particulièrement fortement dans le cervelet. La recherche de mutation chez 191 patients avec retard mental non syndromique inexpliqué n'a pas permis d'identifier de mutation délétère. Neuf des onze patients avec une microdélétion emportant HNRNPU, FAM36A et NCRNA0201 mais pas AKT3 ni ZNF238 ne présentent ni microcéphalie ni anomalie du corps calleux. Ces résultats suggèrent que HNRNPU, FAM36A et NCRNA0201 ne sont pas des gènes majeurs pour la microcéphalie ou les anomalies du corps calleux mais sont d'excellents candidats au retard mental et à l'épilepsie chez ces patients.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P352 - OBSERVATION FAMILIALE D'UNE TRANSLOCATION X-AUTOSOME T(X,15) AVEC INSUFFISANCE OVARIENNE PREMATUREE.
FAMILIAL TRANSLOCATION T(X,15) WITH PREMATURE OVARIAN FAILURE

L Rifai (1), N Aboussair (2), E Chadli (1)

1. Service de Cytogénétique, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc
2. Service de Génétique, CHU Mohammed VI, Marrakech, Maroc

Nous rapportons le cas d'une jeune fille de 28 ans, avec un développement psychomoteur normal qui consulte pour une aménorrhée secondaire. Elle est issue de parents consanguins et c'est l'aînée d'une fratrie de 3. Elle a deux sœurs dont une de 23 ans ayant des cycles réguliers, l'autre de 20 ans présente une aménorrhée primaire. La mère a une aménorrhée secondaire survenue à l'âge de 28 ans.

Le bilan réalisé chez notre patiente trouve un utérus de petite taille avec des ovaires involués et un bilan hormonal d'insuffisance ovarienne. Le caryotype montre la présence d'une translocation X autosome avec la formule : 46,X,t(X;15)(q23;p11). On retrouve également cette anomalie chez sa soeur qui présente une aménorrhée primaire. Le caryotype de la mère est en cours.

La cassure au niveau du bras long du chromosome X est très proche de certaines régions critiques indispensables à une fonction ovarienne normale. Il s'agit des régions POF1 en Xq26-q28 et POF2 en Xq13.3-q21.1 porteuses de gènes impliqué dans le développement ovarien, ce qui explique la survenue d'une aménorrhée secondaire chez notre patiente.

L'étude génétique de cette famille contribuera sans doute à localiser, grâce aux points de cassures du chromosome X, de nouveaux gènes dans cette région.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P353 - RECHERCHE DE LA DELETION 22Q11.2 CHEZ DES PATIENTS AYANT DES FENTES PALATINES SANS FENTES LABIALES

F Fakhfakh (1), H Hableni (2), H Kamoun (3), F Karray (2), S Maatoug (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de médecine de Sfax, sfax, Tunisie
2. Service de Chirurgie Maxillo-Faciale, Hôpital Habib Bourguiba - Sfax, sfax, Tunisie
3. Service de Génétique Médicale, hôpital Hédi Chaker Sfax, sfax, Tunisie

Les fentes labio-maxillo-palatines ou labio-palatines (FLP) sont la conséquence d'un défaut de fusion totale ou partielle des bourgeons constitutifs du massif facial. Les fentes labiales avec ou sans fentes palatines (FL/P), d'une part et les fentes palatines sans fentes labiales d'autre part (FP) sont deux groupes différents tant sur le plan développemental que sur le plan étiologique. Le syndrome CATCH22, dû à une microdélétion 22q11.2, est le plus fréquent parmi les syndromes associés à une anomalie palatine. Ce syndrome est caractérisé par une diversité phénotypique. Ceci a incité certains auteurs à recommander l'analyse systématique de la micro délétion 22q11.2 par la technique d'hybridation in situ fluorescente (FISH) pour toute fente palatine, même si elle est isolée. Cet avis n'était pas partagé par tous les auteurs. L'objectif de notre travail était de vérifier si la région 22q11.2 peut être déletée chez des patients porteurs d'une FP même isolée.

Notre étude a été menée sur des patients présentant une fente palatine sans fente labiale. Un interrogatoire, une enquête familiale et un examen clinique minutieux ont été réalisés pour chacun de ces patients. Ces derniers ainsi que leurs parents ont fait l'objet d'un caryotype en bande G ainsi qu'une analyse par la technique FISH à la recherche d'une délétion 22q11.2.

L'hybridation in situ fluorescente par une sonde spécifique nous a permis d'identifier une délétion chez un seul patient, qui présente une FP et une cardiopathie congénitale.

Les résultats de notre étude corroborent l'hypothèse qui stipule que la recherche de la délétion 22q11.2 ne devrait être recherchée que dans le cadre d'un tableau clinique évocateur. Le recrutement d'autres patients est nécessaire avant de pouvoir proposer des conclusions valables, quant à l'intérêt de la recherche systématique de cette délétion 22q11.2 chez des patients porteurs de FP isolée, de point de vue statistique.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P354 - DISCORDANCE CHEZ DES JUMEAUX MONOZYGOTES PORTEURS D'UNE TETRASOMIE 9P

MONOZYGOTIC TWINS DISCORDANT FOR TETRASOMY 9P

G QUENUM (1), V MALAN (1), MC DE BLOIS (1), M ESSAOUI (2), JP BONNEFONT (3), M RIO (3), M VEKEMANS (1)

1. Service d'histologie, embryologie et cytogénétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
2. Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
3. Service de génétique médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France

Mots clés : jumeaux monozygotes, tétrasomie 9p, discordance

La tétrasomie 9p est une affection rare caractérisée par un phénotype variable allant d'un retard de développement modéré voire absent à un syndrome polymalformatif sévère.

Nous rapportons un cas de diagnostic anténatal de tetrasomie 9p dans une grossesse gemellaire monochoriale biamniotique. L'un des jumeau présentait un tableau polymalformatif sévère tandis qu'aucune anomalie n'a été mise en évidence chez l'autre jumeau. Un isochromosome 9p a été retrouvé de manière homogène chez le jumeau polymalformé et en très faible mosaïque chez l'autre. Cette observation illustre l'importance du prélèvement de chaque jumeau en cas de discordance phénotypique et donne l'occasion de revenir sur les différentes hypothèses pouvant expliquer la survenue de ces grosssesses monozygotes hétérocaryotes.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P355 - CORRELATIONS GENOTYPE-PHENOTYPE ASSOCIEES A DES MUTATIONS DU GENE MEF2C ET/OU A DES DELETIONS DE LA REGION 5Q14.3-Q15

E Pallesi-Pocachard (1), J Andrieux (2), AM Bisgaard Pedersen (3), RS Moller (4), D Batista (5), B Benyahia (6), A Carabalona (1), L Faivre-Olivier (7), R Guerrini (8), D Heron (6), PH Kaad (9), B Keren (6), M Kirchhoff (4), V Malan (10), S Manouvrier-Hanu (11), E Parrini (8), A Represa (1), NL Sobreira (12), MF Walsh (12), T Wang (12), C Cardoso (1), M Holder-Espinasse (13)

1. INMED, INSERM U901, Université de la Méditerranee, Campus de Luminy, Marseille, France
2. Plateforme de Génomique, Centre de Biologie Pathologie, CHRU, Lille, France
3. Department of Clinical Genetics, Rigshospitalet, Copenhagen, Danemark
4. The Wilhelm Johannsen Centre for Functional Genome Research, Department of Molecular and Cellular Medicine, The Panum Institute, University of Copenhagen, Copenhagen, Danemark
5. Kennedy Krieger Institute and Department of Pathology, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, USA
6. Génétique Moléculaire et Chromosomique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
7. Service de Génétique, CHU de Dijon, Dijon, France
8. Pediatric Neurology and Neurogenetics Unit, Children's Hospital A. Meyer-University of Florence, Florence, Italie
9. Department of Paediatrics, Hjoerring Hospital, Hjoerring, France
10. Département de Cytogénétique et de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
11. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU, Lille, France
12. Institute of Genetic Medicine and Department of Pediatrics, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, USA
13. Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU, Lille, France

Le retard mental correspond à une atteinte neuro-développementale affectant les fonctions cognitives et d'adaptation, avec une fréquence de 2 à 3 % dans la population générale. Les techniques d'hybridation génomique comparative ont permis de mettre en évidence que des microremaniements chromosomiques pouvaient être à l'origine de ces troubles neurologiques dans environ 10 % des cas pour lesquels l'étiologie restait indéterminée. Récemment, des microdélétions de la région 5q14.3 incluant le gène MEF2C ainsi que des mutations de MEF2C ont été décrites chez des patients présentant un retard mental sévère, des stéréotypies, une épilepsie et des malformations cérébrales. La protéine codée par le gène MEF2C joue un rôle important dans le contrôle homeostatique de la synaptogenèse et dans la mise en place des circuits neuronaux au cours du développement. Cette protéine est également essentielle à la migration et à la différentiation neuronale. Afin de déterminer la variabilité phénotypique liée au dysfonctionnement du gène MEF2C, nous avons étudié les données cliniques, paracliniques et moléculaires de cinq nouveaux patients présentant un déficit cognitif et une délétion de la région chromosomique 5q14.3 incluant le gène MEF2C. Nous avons ensuite comparé ces données à celles des 22 cas ayant été rapportés précédemment dans la littérature. Les résultats montrent que l'haplo-insuffisance de MEF2C conduit dans tous les cas à une hypotonie et un retard mental sévère, une absence de contact visuel et des difficultés alimentaires. Pour conforter cette hypothèse, nous avons inclus dans notre étude 8 autres patients présentant une délétion 5q14.3-q15 plus distale et n'incluant pas MEF2C et avons comparé leur phénotype avec celui des cas précedents. Nous avons observé un tableau clinique nettement moins sévère sur le plan des apprentissages, possiblement associé à une épilepsie. En conclusion, nos données confirment le rôle majeur de MEF2C dans le fonctionnement cognitif mais suggèrent l'existence d'un autre gène présent dans la région 5q15 qui pourrait être également impliqué dans le développement cérébral.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P356 - LA TRISOMIE 21 : EXPERIENCE DU LABORATOIRE DE BIOLOGIE ET GENETIQUE MOLECULAIRE

s Hanachi (1), N Benachour (2), M Bouchareb (1), N Abadi (1), C Benlatreche (1)
1. LABORATOIRE DE BIOCHIMIE, CHU constantine, Constantine, Algérie
2. Lqboratoire de biochimie, CHU constantine, Constantine, Algérie

Introduction:
La trisomie 21 ou syndrome de Down est la cause la plus fréquente de retard mental, parmi les aberrations chromosomiques à la naissance; c'est également celle dont l'incidence est la plus élevée puisqu'elle atteint 1 naissance sur 800.
Trois formes cytogénétique peuvent être observées :
-La forme libre et homogène caractérisée par la présence d'un chromosome 21 surnuméraire dans toutes les cellules de l'organisme.
-La forme en mosaïque ou la trisomie n'est présente que dans une partie des cellules de l'organisme.
- la trisomie 21 par translocation caractérisée par la fusion d'un chromosome 21 avec soit un autre chromosome 21 ou un chromosome du groupe D
Si le diagnostic clinique est généralement facile devant le syndrome dysmorphique évocateur du syndrome de Down, l'analyse chromosomique reste cependant nécessaire pour sa confirmation biologique et surtout pour le conseil génétique.

Patients et méthode
119 caryotypes ont été réalisés dans notre laboratoire, sur une période de 5 ans, allant d'octobre 2004 à juillet 2009, a partir de lymphocytes du sang périphérique suivis d'une dénaturation enzymatique (bandes G) et/ou thermique (bandes R).

Résultats et Discussion

-L'âge de nos malades variait entre 3jours et 6 ans
81 malades soit 68,64% avaient un âge inférieur à 1 an.
-61 étaient de sexe masculin et 58 de sexe féminin soit un sexe ratio de 1,05
L'âge maternel était supérieur à 35ans dans 65,22% des cas.et L'âge moyen des mères au moment de l'accouchement était de 37,23 ans.
-l'étude cytogénétique a montré une prédominance de la trisomie 21 libre et homogène dans 95,8% (114/119)
-une trisomie en mosaïque dans 2,52%(3cas)
Et une trisomie par translocation dans 1,68% (2 cas) dont une translocation entre 2 chromosomes 21 et une translocation entre un chromosome 14 et un chromosome 21.

La majorité de nos sujets trisomiques sont nés de mères dont l'âge est supérieur à 35ans
et la forme libre et homogène reste la forme prédominante.

Conclusion
Nos résultats sont concordants avec ceux de la littérature.
La connaissance des formes cytogénétiques est indispensable pour le conseil génétique afin de déterminer le risque de récurrence.

Mots clés
Trisomie21, syndrome de Down, caryotype, cytogénétique, mosaïque, translocation.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P357 - NOTRE EXPERIENCE EN CYTOGENETIQUE ET NOS PERSPECTIVES

s Hanachi (1), N Benachour (2), M Bouchareb (1), N Abadi (1), C Benlatreche (1)
1. LABORATOIRE DE BIOCHIMIE, CHU constantine, Constantine, Algérie
2. Lqboratoire de biochimie, CHU constantine, Constantine, Algérie

Introduction

La cytogénétique est la discipline médicale qui étudie les anomalies chromosomiques observées au cours des maladies génétiques constitutionnelles et des cancers. Le dénombrement correct des chromosomes humains établi seulement en 1956 a marqué son départ. L'introduction des techniques de bandes chromosomiques, puis des techniques d'hybridation in situ et maintenant des micro-puces génomiques a permis un développement considérable de la cytogénétique qui est devenue un élément important dans l'approche diagnostique, dans l'évaluation du pronostic et du risque de récurrence de ces différentes pathologies.

Nous rapportons ici le bilan d'activité de l'unité de cytogénétique du laboratoire de biologie et génétique moléculaire de Constantine d'une période de 4 ans. Ainsi que nos perspectives

Patients et méthodes

La cytogénétique a Constantine a vue le jour en 2003 ; vue les aléas de la culture cellulaire, la qualité médiocre des métaphases obtenues au début et les difficultés d'approvisionnements en réactifs nous n'avons pu réaliser que 676 caryotypes.

Ces derniers ont été réalisé par la technique standard de culture cellulaire a partir de lymphocytes du sang périphérique suivie d'une dénaturation enzymatique (bandes G) ou/et thermique (bandes R). Les lames ont été lues à l'aide d'un microscope électronique Zeiss, et les données analysées par le logiciel spécifique

Résultats

Les résultats de cette analyse ont montré une majorité de trisomie 21 représentant 52, 19% de l'ensemble des maladies enregistrées, suivie de 19,29 % d'ambiguïtés sexuelles et 4,82% pour le syndrome de Turner, le reste est représenté par des pathologies à plus faible proportion telles que, les dysmorphies, le syndrome de l'X-fragile et les retards mentaux.

Conclusion et perspectives

Le caryotype standard garde tout son intérêt car il reste un moyen efficace et simple pour observer la totalité des anomalies du génome, malgré la faible résolution des techniques de cytogénétiques conventionnelles. Cependant il doit être complété selon l'indication par d'autres techniques de cytogénétiques moléculaire permettant une exploration plus large du génome.

Le développement de la cytogénétique dans notre laboratoire se ferait dans deux voies essentiellement.

-Premièrement par la mise au point de la technique d'hybridation in situ fluorescente (FISH) qui permettrait une analyse fine de la structure des chromosomes

- Le deuxième type de développement sera :

• la cytogénétique constitutionnelle prénatale pour la détection rapide des principales aneuploïdies (chromosomes 13, 18, 21, X, Y) et la caractérisation des aberrations de structure.

• La cytogénétique hématologique qui permet de confirmer le diagnostic, de suivre l'évolution du patient, d'évaluer le pronostic et d'adapter le protocole thérapeutique

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P358 - ETUDE CYTOGENETIQUE ET MOLECULAIRE D'UN ANNEAU DU CHROMOSOME 14 CHEZ UN ENFANT AVEC RETARD MENTAL ET EPILEPSIE MOLECULAR AND CYTOGENETIC CHARACTERIZATION OF A RING CHROMOSOME 14 IN A BOY WITH MENTAL RETARDATION AND EPILEPSY

F ABDELHEDI (1), N BELGUITH (2), A LEBBAR (1), I HSAIRI (3), A ROUEN (1), L CUISSET (4), MA KSENTINI (2), H BEN OTHMEN (3), D LETESSIER (1), CH TRIKI (3), F FAKHFAKH (5), H KAMOUN (2), JM DUPONT (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, APHP, Groupement Hospitalier Cochin-Broca-Hotel Dieu, Paris, France
2. Service de Génétique Médicale, Hopital Hedi Chaker, Sfax, Tunisie
3. Service de Neuropédiatrie, Hopital Hedi Chaker, Sfax, Tunisie
4. Service de Biochimie et Génétique moléculaire, APHP, Groupement Hospitalier Cochin-Broca-Hotel Dieu, Paris, France
5. Laboratoire de Génétique Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie

L'anneau du chromosome 14 est une anomalie cytogénétique rare ; 50 cas ont été rapportés jusqu'à présent. A travers ces quelques cas rapportés, un phénotype clinique particulier a été décrit pour ce syndrome, incluant une dysmorphie faciale caractéristique, une épilepsie pharmaco-résistante et une rétinopathie. Nous rapportons un cas d'anneau du 14 diagnostiqué chez un enfant de 4 ans, à l'occasion de l'exploration d'une épilepsie et d'un retard mental. L'examen clinique retrouve une dysmorphie faciale peu évocatrice d'anneau du 14, une microcéphalie, une hypotonie musculaire et une ectopie testiculaire gauche. L'examen ophtalmologique (fond d'œil et ERG) montre la présence d'une rétinopathie bilatérale maculaire. L'IRM cérébrale décrit une atrophie cortico-sous-corticale. Le caryotype standard montre que l'un des 2 chromosomes 14 est en anneau. L'étude par CGH- array a montré l'existence d'une délétion terminale de 1,03 Mb (105,317,328 à 106,349,334) (Whole genome Tiling Nimbelgen: Hgl8, 135K). Cette délétion a été confirmée par FISH (BAC RP11- 5F6). D'après les études in silico, cette région ne comprend pas des gènes impliqués dans des pathologies humaines. L'étude moléculaire par les marqueurs microsatellites a montré l'absence de disomie uniparentale du chromosome 14. L'absence de disomie uniparentale ainsi que l'absence de gènes impliqués dans le retard mental, l'épilepsie ou la rétinopathie dans la région délétée, suggèrent la présence d'un effet de position pouvant expliquer le phénotype de notre patient. En effet, la structure en anneau du chromosome, favoriserait l'hétérochromatiniastion de certaines régions du chromosome, comme cela a été évoqué dans une étude récente portant sur l'étude de 20 cas d'anneau de 14. Notre observation souligne l'intérêt de la caractérisation moléculaire fine par CGH-array des anneaux dans le but d'une meilleure corrélation génotype/Phénotype basée à la fois sur la taille de la délétion mais également sur l'analyse autour des points de cassure, afin de ne pas négliger un éventuel effet de position.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P359 - SYNDROME DE PRADER WILLI

A BEN ITTO (1), K Hamzi (2), S Nadifi (3)
1. pediatrie, faculté de médecine, CASABLANCA, Maroc
2. LGPM, faculté de médecine, CASABLANCA, Maroc
3. LGPM, Faculté de médecine, CASABLANCA, Maroc

Nous rapportons le cas d'une fillette de 4 ans qui présentait une obésité clinique, un déficit mental
et problèmes respiratoires. La patiente est née de parents non consanguins
et en bonne santé. La
grossesse était normale, l'accouchement s'est fait par césarienne
à terme, avec un poids de naissance de 2500 g, le périmètre crânien est inconnu. En période néonatale, elle a présenté une hypotonie sévère avec des troubles de déglutition. La patiente avait un retard manifeste du développement psychomoteur. Elle a
marché et a développé la parole à l'âge de 3 ans. Dès
l'âge de 3 ans, elle a présenté de graves problèmes dentaires.
Au laboratoire de génétique médicale de la faculté de médecine et de pharmacie de Casablanca ,l'étude de méthylation a confirmé le diagnostic, et pour
détecter l'étiologie, on utulise la sonde SNRPN pour hybridation in situ , qui se fixe au niveau de la région 15q11–15q13, nécessaire pour confirmer la délétion du chromosome 15 paternel au niveau de cette région, ce qui représente d'ailleurs le
défaut génétique principal dans SPW.
En conclusion, nous rapportons ce cas dans le but de savoir évoquer le SPW chez les
les enfants présentant une hypotonie néonatale, un déficit mental
et une obésité, et de démontrer la possibilité de diagnostic génétique en utilisant l'analyse de la méthylation de l'ADN dans la région 15q11-13.

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P360 - LES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES ASSOCIEES MALFORMATIONS CEREBRALES CONGENITALES UNE ETUDE CYTOGENETIQUE CONVENTIONNELLE ET MOLECULAIRE D'UNE COHORTE DE 45 PATIENTS

S Dimassi (1), S Mougou (1), A Mlika (2), H Hannechi (1), M Kammoun (3), R Boussoffara (4), N Gouider Khouja (5), H Sboui (6), A Saad (3)

1. Service de cytogénétique et de biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie
2. service de pédiatrie, hôpital Ibn El Jazzar, Kairouan, Tunisie
3. service de cytogénétique et de biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie
4. service de pédiatrie, Hôpital Tahar Sfar, Mahdia, Tunisie
5. service de Neurologie pédiatrique, institut national de neurologie, Tunis, Tunisie
6. service de néonatalogie, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

Les malformations cérébrales définissent toutes les anomalies de forme ou de structure du cerveau, présentes à la naissance, due à un arrêt ou à une modification du développement du SNC. Les malformations cérébrales diffèrent en fonction de la période d'apparition de cette anomalie au cours du développement. Les causes peuvent être à la fois génétiques et environnementales, souvent intriquées. Les anomalies chromosomiques en représentent 7,2%.

Notre travail a porté sur une cohorte de 45 patients porteurs de malformations cérébrales congénitales adressés au service de Cytogénétique et de biologie de la reproduction du 01/01/2010 et 15/01/2011. Les malformations cérébrales étaient hétérogènes : 1 cas d'holoprosencéphalie, 14 cas d'agénésie du corps calleux, 6 cas de troubles de la gyration, 6 cas d'hydocéphalie et 18 cas de malformations de la fosse postérieure. Tous nos patients ont eu un caryotype standard. L'indication de l'exploration par les techniques de cytogénétique moléculaire : l'hybridation in situ fluorescente (FISH) et l'hybridation génomique comparative sur puce à ADN (CGH array) s'est faite en se basant sur les tableaux cliniques de nos patients.

9 anomalies chromosomiques ont été identifiées ce qui représente 20% des cas. Il s'agit d'anomalies de nombre : une trisomie 21, un chromosome marqueur dérivatif du chromosome 22 et des anomalies de structure : une délétion 5p14, une microdélétion 22q11.2, une microdélétion 17p13.3 isolée, une microdélétion 17p13.3 associée à une microduplication 3p26, une microduplication 15p11.2 et une microdélétion 9p21.

L'apport de la cytogénétique conventionnelle et a fortiori moléculaire dans le diagnostic de ces malformations est incontestable. Cette approche nous a permis d'identifier dans un cas sur cinq une anomalie chromosomique. De plus, une certaine corrélation génotype semble se dégager quant aux anomalies de la gyration mais aussi des agénésies des corps calleux avec l'identification de gènes connus et /ou candidats impliqués dans la migration neuronale et/ou dans la croissance cérébrale. Ainsi, un conseil génétique approprié aux familles affectées et une meilleure prise en charge, aussi bien en post-natal qu'en pré-natal pourrait être proposée.

Mots clefs : malformations cérébrales, anomalies chromosomiques, Hybridation in situ fluorescente, CGH array

titre en anglais : Chromosomal abnormalities associated with congenital brain malformations : a conventional and molecular cytogenetic study of a cohorte of 45 patients

POSTER

2. Cytogénétique constitutionnelle et remaniements génomiques

P361 - L´IMPORTANCE DU CGH-ARRAY POUR LA COMPREHENSION DE L´INFORMATION GENETIQUE.
THE IMPORTANCE OF ARRAY CGH IN UNDERSTANDING OF GENETIC INFORMATION.

HD Gabriel (1), M Gencik (2), Z Gencik-Guillier (1), A Lott (1)
1. Zentrum fuer Medizinische Genetik, Diagenos, Osnabrueck, Allemagne
2. Praxis für Humangenetik, Mol. Genetics Laboratory, Vienna, Autriche

Ce travail présente les résultats d'analyses d´environ 900 patients en diagnostic post- et pré-natal avec CGH oligonucléotide-array. CGH-array ou ACPA (analyse chromosomique sur puce à ADN) a été introduit dans notre institut depuis sept ans.
Deux facteurs clés s'avérent nécessaires dans cette approche. Le premier est le bon choix de l'indication. Le second est une interprétation des résultats approfondissant la compréhension de la région remaniée. Ce diagnostique pangénomique, les critéres d'indications étant bien posés, constitue le premier choix d'analyse des remaniements chromosomiques.
Les indications principales du diagnostic en CGH-array sont dans notre institut des retards mentaux, des épilepsies et l´autisme - éventuellement en combination avec des dysmorphies ou des malformations congénitales. Dans 16 % des cas étudiés, nous décelons par CGH-array un rémaniement génomique permettant de discerner l´origine de la pathologie. En diagnostic prénatal, l'indication principale de CGH-array sont des signes d´appel échographiques pas courants. Le CGH-array détecte ainsi les abbérations dans 24% des cas.
Cette approche permet aussi d'établir des diagnostics jusqu´alors inexpliqués.
L´analyse des résultats insiste sur l´interprétation de la corrélation génotype/phénotype.
Notre expérience contribue à une meilleure compréhension de la signification des déletions et des duplications de certaines régions du génome.
Nous avons choisi des exemples démonstratifs qui incluent un développement sur le rôle des régions remaniés ainsi que quelques hypothèses sur les gènes candidats.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P362 - INVESTIGATION PAR SEQUENÇAGE HAUT DEBIT ET CGH HAUTE RESOLUTION DE DEUX FRERES INFERTILES.

C Coutton (1), R Zouari (2), v Satre (1), C Borel (3), R Sachidanandam (3), c Arnoult (4), PS Jouk (1), J Lunardi (5), F Devillard (1), F Amblard (1), PF Ray (5)

1. Departement de Génétique et Procréation, CHU de GRENOBLE, GRENOBLE, France
2. Clinique de la Reproduction les Jasmins, 23, Av. Louis BRAILLE, TUNIS, Tunisie
3. Genetics and Genomic Science, Mont Sinai School of Medicine, New York, USA
4. Equipe "Génétique, Infertilité et Thérapeutique", Laboratoire AGIM, CNRS FRE3405, Université Joseph Fourier, GRENOBLE, France
5. UM de Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU de GRENOBLE, GRENOBLE, France

L'infertilité masculine est une pathologie multifactorielle complexe avec une composante génétique probablement forte. Nous avons à plusieurs reprises utilisé avec succès l'approche de cartographie par homozygotie pour étudier cette pathologie hétérogène. Cette approche est cependant surtout adaptée à l'étude de patients présentant un phénotype spécifique et nés de parents apparentés. L'émergence des techniques de génétique haut débit peut permettre l'identification de nouveaux gènes à partir de l'étude de cas familiaux isolés. Cette stratégie nous parait être particulièrement adaptée à l'infertilité masculine qui reste peu explorée et qui présente une grande hétérogénéité génétique.

Nous avons recruté quatre frères azoospermes, nés de parents cousins germains. L'objectif premier est de détecter un variant homozygote, compatible avec la consanguinité parentale, susceptible d'expliquer le phénotype. Pour cela, nous avons analysé deux des frères par séquençage exomique et CGH-array.

Nous avons procédé au séquençage exomique en collaboration avec la plateforme génomique de l'hôpital Mount Sinai de New York. Environ 34 000 variants ont été identifiés pour chacun des frères. Vingt quatre mille variants étaient communs aux deux frères, dont 11 082 étaient présents à l'état homozygote. Après l'exclusion des variants introniques (hors séquence consensus d'épissage), synonymes et non traduits restaient 2472 variants, principalement faux sens (2401). En excluant secondairement les variants touchant des gènes sans expression testiculaire, des acides aminés non conservés, les polymorphismes fréquents (db132) et les erreurs d'attribution de la séquence mutée, aucun variant n'a été retenu comme bon candidat.

Au sein de notre laboratoire, nous avons dans un second temps réalisé une analyse de CGH haute résolution avec des puces Agilent 1 Million. Onze CNVs communs ont été identifiés chez les deux frères dont 2 délétions homozygotes, 7 délétions hétérozygotes et 2 duplications. Tous ces CNVs sont fréquemment retrouvés dans la base DGV et/ou aucun n'emporte de gènes testiculaires.

Ces résultats négatifs peuvent s'expliquer par : 1) une hypothèse de départ (variant homozygote) fausse ; 2) des critères d'exclusions trop stringents éliminant le variant pathogène : par exemple variant intronique ou silencieux modifiant l'épissage; 3) un variant non détectable ou détecté par les techniques utilisées : réarrangement génomique trop petit pour la CGH array, variants introniques profonds ou exoniques non séquencés (seulement 84 % des exons ont été séquencés (profondeur 20X) au cours du séquençage exomique).

Il est indiscutable que l'évolution des techniques d'analyses moléculaires et génomiques entrainera une mutation de la pratique de la génétique moléculaire. Notre modeste expérience nous montre que ces technologies comportent encore des limites techniques et analytiques et que les stratégies diagnostiques appliquées à des cas familiaux isolés restent à définir.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P363 - HOMOZYGOUS SMN2 DELETION: A POSSIBLE NEUROPROTECTIVE FACTOR IN THE SWEDISH ALS POPULATION.

H Blasco (1), P Vourc'h (2), C Ingré (3), R Press (4), J Praline (5), C Antar (2), A Paubel (6), C Veyrat-Durebex (2), YO Guettard (7), w Camu (8), PM Andersen (9), CR Andres (10), P Corcia (11)

1. Biochimie et biologie moléculaire, hopital Bretonneau, Tours, France
2. Biochimie et biologie moléculaire, Hopital Bretonneau, Tours, France
3. Department of Clinical Neuroscience, Umeå University, Umea, Suède
4. Department of Neurology, Karolinska University hospital, Stockholm, Suède
5. Service de neurologie, Hopital Bretonneau, Tours, France
6. service de génétique, Hopital Bretonneau, Tours, France
7. Biochimie et biologie moléculaire, Hopital Bretaonneau, Tours, France
8. Centre SLA, CHU de Montpellier, Montpellier, France
9. Department of Clinical Neuroscience, Umeå University, Umea, Suède
10. biochimie et biologie moléculaire, Hopital Bretonneau, Tours, France
11. service de neurologie, Hopital Bretonneau, Tours, France

Abnormal SMN1-copy number has been associated with an increased risk of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) in French and Dutch population studies. The aim of this study was to determine whether SMN gene copy number increases the risk of ALS or modulates its phenotype in a cohort of Swedish sporadic ALS patients.

Materials and Methods:

502 Swedes with sporadic ALS and 502 Swedish controls matched for gender and age were enrolled. SMN1 and SMN2 gene copy numbers were studied by a semi-quantitative PCR method. A genotype-phenotype comparison was performed in order to determine whether SMN genes modulate the phenotype of ALS. The results were also compared with our previously reported French cohort of ALS patients.

Results:

There was no difference between Swedish patients and controls in the frequency of SMN1 and SMN2 copy numbers. The frequency of SMN1 gene copies differed significantly between the French and Swedish ALS populations. The duration of the disease was significantly longer in the Swedish cohort with homozygous deletions of SMN2 when compared to the French cohort.

Conclusion:

Abnormal SMN1 gene copy number cannot be considered as a universal genetic susceptibility factor for SALS and this result underlines the importance of reproducing association gene studies in groups from different origins. We also suggest that SMN2 gene copy number might have different effects on ALS progression in disparate human populations.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P364 - IDENTIFICATION OF A SUSCEPTIBILITY LOCUS FOR VENOUS THROMBOSIS: CAUTION IN INTERPRETING RESULTS FROM IMPUTATION ANALYSIS WHEN LINKAGE DISEQUILIBRIUM EXTENDS OVER A LARGE DISTANCE.

M Germain (1), N Saut (2), T Oudot-Mellakh (1), L Letenneur (3), AM Dupuy (4), M Bertrand (5), MC Alessi (2), JC Lambert (6), D Zelenika (7), J Emmerich (8), L Tiret (9), F Cambien (10), M Lathrop (7), P Amouyel (6), PE Morange (2), DA TREGOUET (1)

1. INSERM UMR_S 937, Hopital Pitié-Salpêtrière, paris, France
2. INSERM UMR_S 626, Hopital La Timone, Marseille, France
3. INSERM UMR_S 897, Université Victor Segalen, Bordeaux, France
4. INSERM UMR_S 888, Hopital La Colombiere, Montpellier, France
5. INSERM UMR_S 708, Université Pierre et Marie Curie, paris, France
6. INSERM UMR_S 744, Institut Pasteur de Lille, Lille, France
7. CNG, CEA, Evry, France
8. INSERM UMR_S 765, Hopital Europeen George Pompidou, Paris, France
9. INSERM UMR_S 937, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
10. INSERM UMR_S 937, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

We re-analysed two genome-wide association studies for venous thrombosis (VT) totalling 1,961 VT cases and 2,238 controls using 1000 Genomes based imputations and detected a new susceptibility locus that had been missed by previous imputation analyses based on the HapMap2 release 21 reference dataset. At this locus, twelve SNPs demonstrated significant association with VT at $p < 10\text{-}12$. A comprehensive linkage disequilibrium and haplotype analysis of the whole locus and the use of independent case-control samples demonstrated that the culprit variant was a rare variant (minor allele frequency : 0.03) located ~1Mb away from the original hits, associated with an allelic odds ratio for VT of ~2.5, not tagged by current genome-wide genotyping arrays and even not well imputed in the original GWAS samples.
This work also demonstrates the need for exercising careful and comprehensive analysis of detected association signals to avoid false inference on the functional variant.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P365 - ESTIMATION DE LA FREQUENCE DU POLYMORPHISME RS12979860 ASSOCIE AU GENE IL28B DANS LA POPULATION MAROCAINE ET CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS D'HEPATITE CHRONIQUE C

M Tajir (1), M Elmachad (2), N Kabbaj (3), FZ Laarabi (2), N Amrani (3), A Sefiani (4)

1. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
3. Service EFD-Hépato-gastroentérologie, CHU Ibn Sina, UM5S, Rabat, Maroc
4. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, Rabat, Maroc

Introduction :

Dans l'hépatite chronique C, des études génomiques ont permis d'identifier des polymorphismes génétiques chez l'hôte associés à la variabilité individuelle constatée dans l'évolution naturelle de la maladie et dans la réponse au traitement antiviral. Récemment, le génotype CC du polymorphisme rs12979860, situé en amont du promoteur du gène IL-28B, a été fortement associé à la clairance spontanée du virus et à une réponse plus importante au traitement. La distribution de cet allèle varie en fonction des ethnies. La fréquence de ce polymorphisme au Maroc est inconnue.

L'objectif de notre étude est d'estimer la fréquence de l'allèle C de ce polymorphisme dans la population marocaine et parallèlement chez une cohorte de patients avec hépatite chronique C traités par l'Interféron alpha pégylée et la Ribavirine.

Matériel et méthodes :

Nous avons étudié le polymorphisme rs12979860 par PCR en temps réel chez 100 nouveaux nés marocains. Nous avons également étudié ce polymorphisme chez 2 groupes de patients suivis et traités pour hépatite chronique C (génotype 1), le groupe 1 (N=30) comprend des patients ayant atteint la réponse virologique soutenue (SVR) et le groupe 2 (N=30) comprend des patients non répondeurs au traitement. Nous avons comparé la fréquence du génotype CC entre les deux groupes.

Résultats :

La fréquence de l'allèle C du polymorphisme rs12979860 a été estimée à 73% dans la population marocaine. La fréquence de cet allèle dans le groupe des patients avec hépatite chronique C était seulement de 58,3% et le génotype CC est plus fréquent dans le groupe 1 (62,5%) par rapport au groupe 2.

Conclusion :

La fréquence de l'allèle C du polymorphisme rs12979860 dans la population marocaine est plus élevée que celle rapportée dans les populations africaines. La distribution des génotypes de ce polymorphisme chez les patients atteints d'hépatite chronique C répondeurs et non-répondeurs au traitement est similaire aux données rapportées dans la littérature. Ce résultat mérite d'être valorisé par l'analyse d'un échantillon plus large de patients.

Mots-clés : Hépatite chronique C, Interleukine-28, polymorphisme, population marocaine

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P366 - ESTIMATION DE LA PREVALENCE DE LA XERODERMA PIGMENTOSUM AU MAROC

ESTIMATING THE PREVALENCE OF XERODERMA PIGMENTOSUM IN MOROCCO

FZ Laarabi (1), Y Doubaj (1), M Tajir (1), S Chafai Elalaoui (1), A Barakat (2), A Sefiani (3)

1. Département de génétique médicale, Institut national d'hygiéne, Rabat, Maroc
2. Centre National de Référence en Néonatologie et en Nutrition, Hopital d'enfant, Rabat, Maroc
3. Centre de Recherche et Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie. Université Mohamed V, Rabat, Maroc

Contexte: la Xéroderma pigmentosum (XP) est une maladie génétique rare dont l'incidence en Europe est estimée à 1/1000000. Elle est caractérisée par une hypersensibilité au soleil et aux rayons ultra-violets se traduisant sur le plan clinique par des lésions cutanées prédominantes au niveau des zones photo-exposées avec un risque accru de dégénérescence tumorale. Ces lésions peuvent être associées à une atteinte oculaire et/ou neurologique. Les patients atteints ont un défaut de réparation par excision-resynthèse des nucléotides de l'acide désoxyribonucléique (NER). Cette génodermatose, de transmission autosomique récessive, est caractérisée par une grande hétérogénéité génétique avec sept groupes génétiques ou groupes de complémentation (A à G) pour la forme classique et un groupe de complémentation pour le XP variant (XP-V). L'XPC est la forme la plus fréquente avec une mutation récurrente dans la région méditerranéenne. La mutation c.1643_1644delTG (p.Val548AlafsX25) représente à elle seule 74% de tous les XP testés et 87% des mutations XPC chez des patients d'Afrique du Nord avec effet fondateur.

L'objectif de notre travail est d'estimer, par des méthodes d'épidémiologie moléculaire, la prévalence de l' XP dans la population marocaine.

Méthodes : Afin d'estimer la prévalence de l'XP au Maroc, les ADN extraits d'échantillons de sang de cordon ombilical de 250 nouveau-nés ont été testés pour la mutation récurrente du gène XPC, la c.1643_1644delTG en utilisant la technique de PCR en temps réel. Les profils hétérozygotes ont été confirmés par séquençage direct.

Résultats: Parmi 250 nouveau-nés testés, nous avons identifié une personne hétérozygote pour la mutation c.1643_1644delTG. La prévalence des homozygotes pour cette mutation serait d'environ 1/95500, ce qui nous permet d'estimer la prévalence de toutes les formes des XP au Maroc après correction par le coefficient de la consanguinité à 1/80504.

Conclusion: Il s'agit du premier rapport de la prévalence de l'XP dans un pays arabe. Ce résultat montre que la prévalence estimée de l'XP est supérieure à celle constatée en Europe et aux Etats-Unis.

Mots-clés : Xéroderma pigmentosum, épidémiologie, prévalence

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P367 - RECHERCHE D'HETEROGENEITE GENETIQUE DANS UN ECHANTILLON DE PATIENTS BIPOLAIRES EN FONCTION DE L'AGE DE DEBUT DE LA MALADIE.

MH DIZIER (1), B ETAIN (2), M LAJNEF (2), M LATHROP (3), C HENRY (2), S JAMAIN (2), M LEBOYER (2), F BELLIVIER (2), F MATHIEU (2)

1. CEPH, INSERM, PARIS, France
2. U955, INSERM, CRETEIL, France
3. CNG, CEA, EVRY, France

Les études génétiques à partir de gènes candidats ou du génome entier ont permis de détecter de nombreux loci de susceptibilité au trouble bipolaire (TB). Cependant, à l'exception de quelques gènes tels que CACNA1C et ANK3, la plupart des loci ne sont pas répliqués dans les différentes études. L'absence de concordance entre ces études peut être expliquée par l'hétérogénéité phénotypique et génétique du TB. La forme à début précoce de TB (TBP), avec un âge de début inférieur à 22 ans, est caractérisée par un profil clinique homogène et plus sévère et présente une héritabilité plus importante que les formes à début tardif (TBT). En 2006, nous avons identifié huit régions liées au TB dans un échantillon de 87 paires de germains bipolaires, dans le cadre d'une collaboration européenne (Etain et al., 2006). Nous avons ensuite réalisé l'analyse plus fine de ces régions sur 138 paires de germains, qui a permis de confirmer 5 régions liées à la forme précoce du TB (Mathieu et al. 2010).

L'étude présentée ici consiste à rechercher la présence d'hétérogénéité génétique en fonction de l'âge de début du TB par analyse d'association de SNPs situés dans les gènes candidats localisés dans les 5 régions de liaison précédemment identifiées, dans un échantillon de 443 patients bipolaires et de 1731 témoins. Nous avons fait un test d'association (Test exact de Fisher) SNP par SNP en contrastant les patient TBP aux patients TBT, puis, lorsque ce test était significatif, en contrastant les TBP aux témoins et les TBT aux témoins. Nous avons utilisé la méthode de Gao et al. pour la correction des tests multiples. Nous avons également fait une étude d'association gène par gène en corrigeant pour les tests multiples, par la méthode de Bonferonni pour le nombre de gènes testés.

Il existe une hétérogénéité génétique entre le TBP et le TBL au seuil de 5.10-3 pour 8 SNPs, répartis dans 5 gènes candidats (PTPRG, PRINCKLE2, ADRB2, ADAMS18, WWOX). Seul le SNP rs6888329 du gène ADRB2 (p=5.10-5) reste significatif après correction pour les tests multiples, ce SNP étant associé au TBP (p=0.001) mais pas au TBT (p=0.87). L'étude par gène confirme l'hétérogénéité génétique pour le gène ADRB2 (p=2.10-4), significatif après correction pour les tests multiples. Ce gène appartient au "Calcium Signaling Pathway" qui inclue 175 gènes, dont deux associés au TB, CACNA1C (Williams et al. 2011 pour revue) et PPP3CC (Mathieu et al. 2008).

Nos résultats montrent le rôle clef des gènes codant les voies physiopathologiques des canaux calciques voltage dépendants dans la susceptibilité au trouble bipolaire, et plus spécifiquement dans les troubles bipolaires à début précoce.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P368 - INFLUENCE DE L'HAPLOTYPE DE LA PROTEINE TAU DANS L'EXPRESSION CLINIQUE DE LA MA

A ACHOURI RASSAS (1), S HADJ FREDJ (2), H KHIARI (3), T MESSAOUD (2), A MRABET (3)

1. Service de neurologie; Service de biochimie clinique et de biologie moléculaire, Hôpital Charles Nicolle, Tunis; Hôpital d'Enfants, Tunis, Tunis, Tunisie
2. Service de biochimie clinique et de biologie moléculaire, Hôpital d'Enfants, Tunis, Tunis, Tunisie
3. Service de neurologie, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunis, Tunisie

La maladie d'Alzheimer est la plus connue des maladies appelées Tauopathies, où les protéines Tau (MAPT) s'agrègent anormalement et seraient à l'origine de la dégénérescence neuronale. Cette protéine, associée aux microtubules, intervient dans la régulation et la stabilité du réseau de microtubules dans les neurones, en particulier dans les axones. Etant donné la dégénérescence neuro-fibrillaire observée dans la MA et l'implication de la MAPT dans les autres types de démence, le rôle des polymorphismes dans le gène de la protéine tau ne peut être exclu dans l'apparition de la MA. L'objectif de notre travail est l'étude de l'haplotype dans l'intron 9 du gène de la MAPT par rapport à la MA dans une population tunisienne.

Notre étude a porté sur 85 patients (âge moyen: 73,00 ± 9,09 ans) et 90 témoins (âge moyen de 64±22 ans), qui ont été tous soumis à un examen neurologique, un examen neuropsychologique, une imagerie cérèbrale ainsi qu'une analyse génétique moléculaire de MAPT. Une extraction d'ADN a été effectuée suivie d'une PCR dont le produit a été directement révélé sur gel d'agarose à 3%. Les fréquences génotypiques de l'insertion/délétion chez les patients et les témoins sont respectivement de 54,1% vs 72,2% pour le génotype H1/H1, 23,5% vs 20% pour le génotype H1/H2 et 19% vs 7% pour le génotype H2/H2. Les fréquences alléliques chez les patients et les témoins sont respectivement de 65,88% vs 82,22% pour l'allèle H1 et 34,12vs 17,78% pour l'allèle H2. La fréquence de l'allèle H2 est significativement plus élevée chez les patients par rapport aux témoins, ce résultat est similaire chez une population Espagnole et Polonaise contrairement d'autres résultats portant sur des populations Finlandaise, Suédine et Américaine.

Dans notre étude l'hplotype de la protéine tau est associé à la MA dans une population ethniquement homogène tunisienne par rapport aux témoins sains. Dans la MA la protéine tau est hyperphosphorylée, s'accumulant dans les corps cellulaires des neurones et les prolongements nerveux, provoquant une interruption du flux ou du transport axonal. Les polymorphismes au niveau de MAPT pourraient influencer la formation des enchevêtrements neuro-fibrillaires, et par conséquent influer soit sur le développement de la MA, soit sur son apparition.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P369 - ETUDE DU POLYMORPHISME -491 A/T DU GENE DE L'APOE DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER

A ACHOURI RASSAS (1), S HADJ FREDJ (2), H KHIARI (3), T MESSAOUD (2), A MRABET (3)

1. Service de neurologie; Service de biochimie clinique et de biologie moléculaire, Hôpital Charles Nicolle, Tunis; Hôpital d'Enfants, Tunis, Tunis, Tunisie
2. Service de biochimie clinique et de biologie moléculaire, Hôpital d'Enfants, Tunis, Tunis, Tunisie
3. Service de neurologie, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunis, Tunisie

Les syndromes démentiels représentent aujourd'hui un problème majeur de santé publique. La maladie d'Alzheimer (MA) sporadique est l'étiologie la plus fréquente chez le sujet âgé. C'est une maladie neurodégénérative, dont la cause est encore mal comprise, malgré les avancées scientifiques de ces dernières années. À côté des facteurs de risque bien établis de la maladie (âge, niveau d'éducation, allèle 4 de l'ApoE) des études génétiques ont identifié des facteurs potentiels qui pourraient moduler le risque de survenue de la MA. Trois polymorphismes nucléotidiques simples (SNP) (-491A/T,-219G/T et -427C/T), situés sur la région promotrice APOE, sont intéressants car ils influencent la transcription de l'APOE et pourraient avoir des implications fonctionnelles. Notre travail a porté sur l'étude du polymorphisme -491 A/T du gène de l'APOE en rapport avec la MA dans une population Tunisienne.

L'étude a porté sur 85 patients (âge moyen: 73,00 ± 9,09 ans) et 90 témoins (âge moyen de 64±22 ans) recrutés à la consultation de mémoire du service de neurologie de l'EPS Charles Nicolle de Tunis. Tous les patients ont bénéficié d'un examen neurologique, d'un examen neuropsychologique et d'une imagerie cérèbrale. L'étude moléculaire est effectuée d'abord par une extraction de l'ADN par la méthode "Salting-out" suivie d'une PCR-RFLP. Les fréquences génotypiques chez les patients et les témoins sont respectivement de 28,2% vs 48,9% pour le génotype A/A, 52,9% vs 36,7% pour le génotype A/T et 18,8% vs 14,4% pour le génotype T/T. La fréquence de l'allèle T chez les patients 45% est significativement élevée par rapport aux témoins 33%, la fréquence de l'allèle A chez les patients est de 55% et de 67% chez les témoins. Plusieurs études ont montré l'association entre le polymorphisme -491 A/T et la MA, d'autres ont abouti à des conclusions contradictoires.

En conclusion, le polymorphisme -491 A/T du gène de l'APOE est associé à la MA dans une population tunisienne. Cette maladie est une affection neurodégénérative dont l'étiologie est complexe impliquant de multiples facteurs pathogènes. L'identification des gènes qui contribuent au risque de survenue de la MA et qui influencent la progression de cette maladie nous aidera à découvrir les causes de la maladie et de mieux comprendre sa physiopathologie.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P370 - UNE ANALYSE D'EXOME DEMONTRE L'IMPLICATION DE MUTATIONS FAUX SENS DES GENES D'ACTINE ACTB ET ACTG1 DANS LE SYNDROME DE BARAITSER-WINTER, UNE FORME SYNDROMIQUE DE PACHYGYRIE

A Verloes (1), JB Rivière (2), BWV van Bon (3), A Hoischen (3), SS Kholmanskikh (4), BJ O'Roak (5), CT Sullivan (2), N Chassaing (6), A David (7), V Drouin-Garraud (8), D Lacombe (9), C Rusu (10), AE Fry (11), JP Fryns (12), J Shendure (5), H Brunner (3), EM Ross (4), JA Veltman (3), DT Pilz (11), WB Dobyns (2)

1. Dept de Génétique & INSERM U676, CHU Robert DEBRE, Paris, France
2. Center for Integrative Brain Research, Seattle Children's Hospital, Seattle, USA
3. Department of Human Genetics, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, Pays-bas
4. Department of Neurology and Neuroscience, Weill Medical College of Cornell University, New York, USA
5. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle, USA
6. Dept de Génétique, CHU Purpan, Toulouse, France
7. Dept de Génétique, CHU, Nantes, France
8. Dept de Génétique, CHU, Rouen, France
9. Dpt de génétique, CHU, Bordeaux, France
10. Dept of Genetics, Universdity Hospital, Yassi, Roumanie
11. Institute of Medical Genetics, University Hospital of Wales, Cardiff, Royaume-Uni
12. Departement Menselijke Erfelijkheid, University Hospital, Leuven, Belgique

Le syndrome de Baraitser-Winter (BWS) est un syndrome polymalformatif sporadique dont les caractéristiques principales sont une anomalie de la gyration (hétérotopies en bande, ou pachygyrie), et une dysmorphie caractéristique (hypertélorisme, ptosis, sourcils arqués, nez avec une ensellure et une pointe targes, colobome oculaire), une petite taille, une microcéphalie postnatale, des limitations articulaires progressives et une microcéphalie. Les traits s'épaississent nettement avec l'âge. Les personnes touchées ont une déficience intellectuelle modérée et une épilepsie qui peut être sévère. Tous les cas rapportés sont sporadiques. Certains ont été décrits sous l'éponyme de syndrome de Fryns-Aftimos. Nous avons séquencé l'exome de trois trios et identifié des mutations de novo dans ACTB chez un propositus et dans ACTG1 en 2 autres probands. Par séquençage de classique, nous avons ensuite confirmé l'implication d'un de ces 2 gènes chez plus de 15 autres patients, tous de novo. Il ne semble pas y avoir de différence clinique significative entre les 2 groupes de malades. Sur les six actines, seule la β-actine et la γ-actine sont des protéines ubiquitaires dans le cytosquelette des cellules de mammifères. Elles ne diffèrent que par 4 acides aminés. Elles sont impliquées dans la prolifération cellulaire et la migration, le trafic vésiculaire et l'exocytose. Les premières études fonctionnelles sur les mutations ponctuelles identifiées dans les deux gènes de notre cohorte suggèrent qu'elles modifient la composition et / ou l'organisation de la F-actine, et en diminuent la stabilité. Nos résultats indiquent que le syndrome de Baraitser-Winter est une entité clinique reconnaissable, dont la fréquence pourrait être sous-estimée. Ils démontrent que l'actine joue un rôle important dans le développement humain, en particulier dans la migration neuronale le le modelage fin du pôle céphalique.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P371 - VARIANTS DU GENE ABCB11/BSEP ASSOCIES A DIVERSES PATHOLOGIES RARES HEPATOBILIAIRES : EXPERIENCE DU RESEAU NATIONAL ET CORRELATIONS GENOTYPE-PHENOTYPE.

F Dufernez (1), Ch Gendrot (2), A Spraul (3), L Humbert (4), B Parfait (5), E Jacquemin (6), Y Bacq (7), D Valla (8), Ch Corpechot (9), S Hillaire (10), L Orostegui-Giron (11), Ch Housset (12), J Masliah (4), O Lascols (13), O Chazouillères (14), R Poupon (15), D Rainteau (4), VD Barbu (13)

1. Laboratoire Commun de Biologie et Génétique Moléculaires, Pôle de Biologie, APHP, HUPE Saint Antoine, Paris, France
2. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Bretonneau, Tours, France
3. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, APHP, Hôpital Kremlin Bicêtre, Kremlin Bicêtre, France
4. Service de Biochimie spécialisée, APHP, HUPE Saint Antoine & UPMC, Paris, France
5. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Beaujon, Clichy, France
6. Service d' Hépatologie pédiatrique, APHP, Hôpital Kremlin Bicêtre, Kremlin Bicêtre, France
7. Service d' Hépatologie, Hôpital Bretonneau, Tours, France
8. Service d' Hépatologie, Pôle digestif, APHP, Hôpital Beaujon, Clichy, France
9. Centre de Référence des Maladies Inflammatoires des Voies Biliaires, APHP, HUPE Saint Antoine, Paris, France
10. Service d' Hépatologie, Hôpital Foch, Suresnes, France
11. Hormonologie, Pharmacogénétique et Biologie Moléculaire, APHP, Hôpital Kremlin Bicêtre, Kremlin Bicêtre, France
12. CRMIVB, Pôle digestif, APHP, HUPE Saint Antoine & UPMC&INSERM UMRS_938, CdR, Paris, France
13. Laboratoire Commun de Biologie et Génétique Moléculaires, Pôle de Biologie, APHP, HUPE Saint Antoine & UPMC, Paris, France
14. Service d' Hépatologie, Pôle digestif, APHP, HUPE Saint Antoine & UPMC, Paris, France
15. CRMIVB, Pôle digestif, APHP, HUPE Saint Antoine & UPMC, Paris, France

L'identification des gènes codant les transporteurs hépatobiliaires associés à des maladies rares (cholestases gravidiques (ICP) ou induites par les oestro-progestatifs (CholOP), cholélithiases et cholestases chroniques intra-hépatiques fibrogènes (CC) dont les cholestases récurrentes bénignes) a conduit à former un réseau national constitué de 4 laboratoires de Biologie et Génétique Moléculaires. Ce réseau « Hereditary Cholestasis and choleLithiasis » a construit une base de données des variants identifiés sur les gènes ABCB4/MDR3 et ABCB11 /BSEP. Nous rapportons les premières données du réseau pour le gène ABCB11 impliqué dans la sécrétion des sels biliaires dans la bile. Patients et Méthodes : Au sein du réseau, le gène BSEP a été séquencé chez 372 patients ayant une cholélithiase (n=160), une CC (n=73) ou une ICP/cholOP (n=139) directement ou après séquençage du gène MDR3. Le statut homozygote du variant polymorphe V444A (V444A Ho) ayant été associé à une diminution de l'expression de la protéine BSEP et à une susceptibilité accrue à développer une ICP, sa fréquence a été étudiée chez 275 autres patients ayant l'un de ces phénotypes. Par ailleurs, l'analyse qualitative et quantitative des sels biliaires plasmatiques (SB) par spectrométrie de masse tandem couplée à la chromatographie liquide a été réalisée chez 63 patients de l'hôpital Saint- Antoine pour étudier l'influence du génotype sur le profil des sels biliaires. Résultats : Tous phénotypes confondus, nous avons identifié 34 mutations sur le gène ABCB11 : 2 non sens, 3 délétions/insertions, 2 introniques altérant l'épissage, 2 silencieuses et 25 faux sens dont 68% dites délétères par les logiciels de prédiction protéique. Sur les 372 patients étudiés, une variation du gène ABCB11 autre que des variants polymorphes connus, a été identifiée chez 42 patients dont 6 avec cholélithiase (4% des patients avec lithiase), 19 avec CC (25% des CC) et 17 avec ICP/cholOP (12% des ICP). Les patients atteints de CC avec un déficit en BSEP ont des gamma-Glutamyl Transférases normales. Parmi ces patients, seuls 6 ayant une CC, ont un statut homozygote ou double hétérozygote. Parmi les 647 patients, la V444A Ho a été trouvée chez 38,7% des patients avec cholélithiase (n=160), 45% des CC (n=154) et 45% des ICP (n=333). Il n'y a pas de différence significative en fonction du phénotype ni du sexe. L'analyse des SB a révélé que la V444A Ho n'est pas associée à un profil particulier des SB. Un déficit monoallélique sur le gène BSEP est parfois associé à un pourcentage plus élevé de cholate sodique et/ou de sels

biliaires tauroconjugués. Conclusions : L'analyse du gène BSEP a permis l'identification de nouveaux variants délétères au sein des différents phénotypes étudiés. Le statut homozygote du variant polymorphe V444A n'est pas significativement plus fréquent dans l'un des phénotypes étudiés.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P372 - ORIGINMINER : MONTRE-MOI TES GENES ET JE TE DIRAI D'OU TU VIENS.

M de Tayrac (1), MC Babron (2), E Génin (3)
1. Laboratoire de Génomique Médicale, Hôpital de Pontchaillou, Rennes, France
2. INSERM U946, Univ Paris-Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
3. INSERM U946, Univ Paris-Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Pour de nombreux marqueurs génétiques, il existe des différences importantes de répartition des allèles dans les différentes populations humaines. Ces différences peuvent induire des faux positifs dans les études d'association génétique si elles ne sont pas prises en compte. Un moyen de les prendre en compte consiste à apparier malades et témoins en fonction de leur origine populationnelle. Cependant, cette origine n'est pas toujours connue et il faut donc la déterminer au préalable. Pour ce faire, il est possible d'utiliser l'information génotypique et l'objectif de notre travail a été le développement d'un outil permettant d'inférer l'origine populationnelle des individus sur la base de leurs génotypes. Nous avons utilisé des panels de référence mondiaux pour lesquels l'information génotypique est disponible : le panel HAPMAP3 constitué de 1,301 individus provenant de 11 populations et le panel HGDP qui comprend 940 individus issus de 51 populations. L'information génotypique de ces panels a été restreinte à un sous-ensemble de marqueurs communs aux puces de génotypage les plus utilisées (Affymetrix array 5.0 et Illumina Human660W-Quad). A partir de ces données, nous avons établi les profils caractéristiques des différentes populations par Analyse en Composantes Principales (ACP). Notre outil utilise ces profils pour déterminer l'origine géographique la plus probable d'un ou de plusieurs individus pour lesquels on ne dispose que de données génotypiques. Il permet la projection de ces individus sur les cartographies obtenues à partir des panels de référence. Cette projection permet de les situer visuellement par rapport aux populations de références. Des méthodes de classification et le calcul de probabilités d'appartenance a posteriori permettent ensuite de mesurer leurs origines populationnelles. Selon les panels de référence utilisés, il est possible d'affiner la détermination de l'origine géographique d'un individu à l'intérieur des grandes régions mondiales.

Notre outil OriginMineR a été implémenté dans un package R et validé sur plusieurs échantillons d'individus recrutés dans le cadre d'études d'association pangénomique. Ce package inclut aussi la possibilité pour chaque malade, d'obtenir la liste des témoins les plus proches dans les panels de référence.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P373 - VARIANTS RARES ET STRATIFICATION DE LA POPULATION BRITANNIQUE : DESCRIPTION ET IMPACT SUR LES ETUDES D'ASSOCIATION

MC Babron (1), M de Tayrac (2), E Génin (3), DN Rutledge (4), E Zeggini (5)
1. INSERM U946, Univ Paris-Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
2. Laboratoire de Génomique Médicale, Hôpital de Pontchaillou, Rennes, France
3. INSERM U946, Univ Paris-Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
4. Laboratoire de chimie analytique, AgroParisTech, Paris, France
5. Applied Statistical Genetics, Wellcome Trust Sanger Institute, Cambridge, Royaume-Uni

L'essor des nouvelles technologies très haut-débit permet aujourd'hui de se lancer dans des études d'association incluant des variants rares. Alors que les variations de fréquence alléliques pour les variants fréquents ont été bien étudiées dans différentes populations, la stratification induite par les variants rares et son impact sur les tests d'association restent peu connus. Il devient donc très important d'évaluer cette stratification afin de guider les chercheurs dans la planification d'études utilisant ces technologies et particulièrement le séquençage nouvelle génération.

Nous avons étudié ces phénomènes de stratification dans la population britannique à partir des données génotypiques (puce Affymetrix 500K) du Wellcome Trust Case Control Consortium (WTCCC). Trois catégories de marqueurs ont été établies en fonction des fréquences alléliques (inférieure à 1%, entre 1 et 5%, supérieure à 5%) et des Analyses en Composantes Principales (ACP) ont été réalisées. Les cartographies obtenues mettent en évidence l'existence de stratifications différentes pour chacune des classes de variants, les composantes principales (PC) extraites de ces analyses étant très peu corrélées. Cependant, fait intéressant, même si les axes de variation (PC) ne sont pas les mêmes, ils sont tous fortement liés à la subdivision géographique du pays.

Nos travaux montrent que ces stratifications doivent être prises en compte dans les études d'association pour limiter le taux de faux positifs. Ils suggèrent que la solution la plus adaptée consiste à ajuster les tests d'association différemment pour chaque catégorie de marqueurs. Nous avons illustré ce travail avec les données de diabète de type 2 du WTCCC.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P374 - RECHERCHE D'ASSOCIATIONS GENETIQUES ENTRE LES GENES CARD-8 (C10X) ET NLRP3 (Q705K) ET LA SUSCEPTIBILITE A LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE DANS LA POPULATION TUNISIENNE

M Ben Hamad (1), F Cornelis (2), S Marzouk (3), G Chabchoub (1), Z Bahloul (3), F Fakhfakh (1), E Petit-Teixeira (2), A Maalej (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie
2. GenHotel, EA3886, Laboratoire de Recherche Européen pour la Polyarthrite Rhumatoïde, Université Evry-Val d'Essonne, Université Paris 7, Evry, France
3. Service de Médecine Interne, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

L'inflammasome est un complexe multiprotéique cytosolique. Il est composé d'une protéine NALP3 ou cryopyrine (codé par le gène NLRP3) de deux protéines adaptatrices ASC (Apoptosis associated Speck-like protein) et TUCAN (codé par le gène CARD-8). La fonction de l'inflammasome est l'activation de la caspase-1, qui, assure le clivage protéolytique nécessaire à la maturation de la pro-IL-1 beta en IL-1 beta, mais aussi de la pro-IL-18 en IL-18. Ainsi, l'inflammasome constitue l'élément central de régulation de la production de la principale cytokine inflammatoire, l'IL-1 beta. Afin de rechercher une éventuelle association génétique entre la susceptibilité à la polyarthrite rhumatoïde (PR) et les gènes CARD8 et NALP3, deux polymorphismes (CARD8 c.30T>A, rs2043211) et (NLRP3 c.2113C>A, rs35829419) ont été analysés dans une série de 141 patients atteints de PR non apparentés et 191 témoins d'origine Tunisienne. Le typage est effectué par PCR quantitative en temps réel ou «TaqMan» (ABI 7500). L'analyse statistique a été effectuée avec le Test Chi2 (2x2), le risque relatif du génotype (GRR) et l'Odds Ratio (OR). La distribution des fréquences alléliques et génotypiques n'a pas montré aucune différence significative pour ces deux polymorphismes ($p = 0,42$; $p = 0,155$ et $p = 0,28$; $p = 0,34$; respectivement). De plus, aucune différence significative n'a été détectée entre les patients ayant des nodules rhumatoïdes, des érosions, des anticorps anti-peptides citrullinés (anti-CCP), le facteur rhumatoïde (FR), une maladie auto-immune associée, l'allèle HLA-DRB1 * 04 ou l'allèle HLA-DRB1 * 04:04 comparés aux témoins ($p>0,007$). En conclusion, nos données suggèrent que les deux polymorphismes des gènes CARD-8 (C10X) et NLRP3 (Q705K) ne sont pas impliqués dans la susceptibilité génétique à la PR dans la population Tunisienne.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P375 - RECHERCHE D'ASSOCIATION GENETIQUE ENTRE LA REGION 6Q23 ET LA SUSCEPTIBILITE A LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE DANS LA POPULATION TUNISIENNE

M Ben Hamad (1), F Cornelis (2), S Marzouk (3), G Chabchoub (1), Z Bahloul (3), F Fakhfakh (1), E Petit-Teixeira (2), A Maalej (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie
2. GenHotel, EA3886, Laboratoire de Recherche Européen pour la Polyarthrite Rhumatoïde, Université Evry-Val d'Essonne, Université Paris 7, Evry, France
3. Service de Médecine Interne, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

La Polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie inflammatoire chronique qui affecte 0,5 à 1% de la population. La susceptibilité à cette maladie auto-immune fait intervenir des facteurs génétiques et environnementaux. Des variants situés dans le locus 6q23 très proches du gène TNFAIP3 (tumor necrosis factor-alpha–induced protein 3) et du gène OLIG3 (oligodendrocyte lineage transcription factor 3) ont été décrits associés à la PR dans les populations Caucasiennes et Asiatiques. L'objectif de notre étude est de tester l'association entre le variant rs6920220 de la région 6q23 et la susceptibilité à la PR dans la population Tunisienne. L'étude a été effectuée sur 141 patients non apparentés atteints de PR et 191 témoins sains d'origine Tunisienne. Le typage est effectué par PCR quantitative en temps réel ou «TaqMan» (ABI 7500). L'analyse statistique a été effectuée avec le Test Chi2 (2x2), le risque relatif du génotype (GRR) et l'Odds Ratio (OR). La distribution des fréquences alléliques et génotypiques n'a pas montré une différence significative pour ce SNP (25,5% chez les patients PR contre 22,5% chez les témoins, p = 0,35 et 45,4% contre 39,3%, p=0,26 ; respectivement) (OR (IC 95%) : 1,18 [de 0.83 à 1,70]; 1,29 [0,83 à 2], respectivement). La stratification de nos patients en fonction des données cliniques et immunologiques (la présence de nodules, de maladies auto-immunes associées, des érosions, des anticorps anti-peptides citrullinés et du facteur rhumatoïde) n'a pas montré aussi une association significative avec le polymorphisme rs6920220. En conclusion, nos données suggèrent que la région 6q23 n'est pas impliquée dans la susceptibilité génétique à la PR dans la population Tunisienne. Cependant, une réplication sur un échantillon plus large et de même origine ethnique pourrait augmenter la puissance pour détecter une association.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P376 - DIAGNOSTIC GENETIQUE ET IDENTIFICATION DE NOUVEAUX GENES DANS LES MALADIES NEUROMUSCULAIRES PAR SEQUENÇAGE HAUT DEBIT

V Biancalana (1), j Böhm (1), A Echaniz-Laguna (2), B Jost (1), j Laporte (1), V Laugel (3), S Le Gras (1), JL Mandel (1), J Muller (1), C Tranchant (2), N Vasli (1)

1. IGBMC, U964, UMR7104, Collège de France, Illkirch, France
2. Département de Neurologie, Hôpital Civil de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier Universitaire, Strasbourg, France

Les maladies neuromusculaires sont des maladies rares avec un impact important sur les patients, leurs familles et le système de santé. Malgré de nombreux efforts, près de la moitié des patients n'ont pas de diagnostic moléculaire et de nouveaux gènes impliqués restent à identifier. Ces maladies sont caractérisées par une forte hétérogénéité génétique (mutations dans différents gènes causant un phénotype similaire) et une hétérogénéité phénotypique (un gène impliqué dans plusieurs maladies alléliques). Afin de valider une approche diagnostique plus rapide et moins couteuse, et d'identifier de nouveaux gènes mutés dans les myopathies, nous avons validé la capture ciblée en phase liquide (Agilent) et le séquençage haut débit (Illumina).

Diagnostic moléculaire : Nous avons séquencé 267 gènes mutés dans les maladies neuromusculaires chez 16 patients, 8 avec mutations connues et 8 sans mutations précédemment identifiées. Nous avons détecté de façon reproductible toutes les mutations connues, incluant des mutations homozygotes, hétérozygotes et hémizygotes, ainsi que de mutations ponctuelles exoniques et introniques, de petites insertions et une grande délétion. Pour la plupart des patients sans diagnostic moléculaire, nous avons identifié des mutations potentielles en cours de confirmation par analyse de la ségrégation et études fonctionnelles. Cette approche pourrait être développée comme premier criblage avant des investigations plus longues et invasives, afin de diminuer l'errance diagnostique.

Identification de nouveaux gènes: Nous avons utilisé le séquençage ciblé sur région d'intérêt ou sur tout l'exome pour des patients atteints de différentes myopathies et comparé différents fournisseurs. Nous avons identifié des mutations dans un gène déjà impliqué dans d'autres types de myopathies, suggérant que cette stratégie permet de révéler des maladies alléliques et d'élargir le spectre clinique. Pour d'autres myopathies congénitales, l'implication de nouveaux gènes est en cours de confirmation par des études fonctionnelles in cellulo ou dans des modèles animaux.

En conclusion, nous proposons le séquençage haut débit ciblé comme une approche efficace afin d'identifier les mutations causant les maladies neuromusculaires, un pré-requis pour un meilleur conseil génétique, des soins plus adaptés et dans le cas de nouveaux gènes l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P377 - DISTRIBUTION DU POLYMORPHISME DU 5-HTTLPR DU TRANSPORTEUR DE LA SEROTONINE CHEZ LA POPULATION MAROCAINE SAINE

DISTRIBUTION OF 5-HTTLPR SEROTONIN TRANSPORTER POLYMORPHISM IN MOROCCAN POPULATION

S Nassereddine (1), K HAMZI (1), B DIAKITE (1), S Nadifi (1)

1. Laboratoire de Génétique et Pathologie Moléculaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc

La sérotonine (5-hydroxytryptophane, 5-HT) est une amine biogène synthétisée de façon endogène à partir du tryptophane. Ses effets les plus largement connus concernent le système nerveux central (SNC), Sécrétée dans la fente synaptique, la sérotonine se lie à son transporteur (5-HTT) à ses récepteurs post synaptiques qui sont au moins au nombre de 7 de 5HT1 à 5HT7. Ce transporteur (5HTT) contrôle la fonction synaptique sérotoninergiques. Ce gène est un gène candidat de susceptibilité pour divers troubles psychiatriques.), un polymorphismes situé au niveau de ce gène a suscité beaucoup d'intérêt : Une insertion /délétion de 44 pb situé dans la région promotrice (5-HTTLPR : 5-HTT gene-linked polymorphic region), situé au niveau du deuxième intron. Aucune étude évaluant la fréquence allèlique du polymorphisme 5-HTTLPR dans la population marocaine n'a été faite; cette population est connue par son hétérogénéité génétique prouvée par les études populationnelles, une telle étude sera une base de données épidémiologique pour des études d'association avec les maladies neuropsychiatriques et cardiovasculaire.

Mots clés : polymorphisme, 5-HTTLPR , sérotonine, population marocaine

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P378 - ASPECTS GENETIQUES DE L'HYPERTENSION ARTERIELLE ESSENTIELLE DE L'ADULTE.

GENETICS OF ESSENTIAL HYPERTENSION IN ADULTS.

S Nassereddine (1), R Habbal (2), S Hajib (2), F Korchi (2), S Nadifi (1)

1. Laboratoire de Génétique et Pathologie Moléculaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc
2. Service de Cardiologie, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc

L'hypertension artérielle (HTA) est l'un des principaux déterminants des maladies cardiovasculaires; elle constitue un problème majeur de santé publique et la première cause modifiable de morbidité dans le monde.

L'élément permanent de l'HTA essentielle est lié à une augmentation des résistances périphériques qui dépend du système rénine angiotensine aldostérone en une grande partie.

Au Maroc, l'HTA touche le 1/3 de la population (33,6%) vu la transition démographique et socio-économique. L'HTA est une pathologie complexe, multifactorielle, dont le déterminisme est associé à des facteurs génétiques (30%) et environnementaux, Plusieurs gènes candidats (AGT, ACE, AGTR1, CYP11B2, REN) codant pour des protéines impliquées dans le SRAA ont fait l'objet de nombreuses études d'association, des modifications au niveau des gènes codant pour les différentes protéines de ce système ont été les premières à être incriminées et étudiées.

Par le présent travail, nous voulons montrer nos premiers résultats concernant notre étude qui a pour but de starifier nos malades selon le risque cardiovasculaire et de les comparer selon leur profil génétique.

Mots clés : HTA essentielle , génétique du système rénine angiotensine aldostérone (SRAA).

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P379 - IDENTIFICATION DE 2 LOCI ASSOCIES A LA CARDIOMYOPATHIES DILATEE HUMAINE PAR ASSOCIATION GENOME ENTIER (GWAS)

E Villard (1), C Perret (2), F Gary (1), C Proust (2), G Dilanian (3), D Tregouet (2), L Tiret (2), R Isnard (4), M Komajda (4), P Charron (5), F Cambien (2)

1. UMRS956, INSERM/UPMC, PARIS, France
2. UMRS937, INSERM/UPMC, PARIS, France
3. U, INSERM/UPMC, PARIS, France
4. Département de Cardiologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
5. Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, PARIS, France

In this first genome-wide association study of heart failure due to dilated cardiomyopathy (DCM) with discovery and replication cohorts comprising overall 2344 cases and 2410 controls we identified two DCM-associated SNPs, rs10927875 and rs2234962 with respective P-values of 9.5 x 10-10 and 4.0 x 10-12 in the combined data set. The first SNP is located at a locus on 1p36.13 which exhibit a yin/yang haplotype structure encompassing several genes including HSPB7. The second SNP on 10q26.11 is located within BAG3 and is non-synonymous. Sequencing of BAG3 exons in patients with familial DCM identified several damaging mutations which were absent in healthy individuals, suggesting that they are causal for familial DCM. HSPB7 and BAG3 encode for non-structural proteins important for autophagy, which implicates perturbed protein processing as a potential new mechanism underlying DCM-associated heart failure.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P380 - ETUDE GENETIQUE DE 11 FAMILLES TUNISIENNES DE BARDET-BIEDL SYNDROME

GENETIC STUDY OF 11 BARDET-BIEDL SYNDROME TUNISIAN FAMILIES

H Chaabouni (1), H Dollfus (2), O M'HAMDI (3), F Maazoul (4), JL Mandel (5), J Muller (6), I Ouertani (7), C Redin (6), C Stoetzel (8)

1. Service des Maladies Congénitales et Héréditaires, Hôpital Charles Nicolle deTunis, Tunis, Tunisie
2. Laboratoire de Génétique Médicale EA3949, Equipe AVENIR-Inserm, Université de Strasbourg, Faculté de Médecine, Strasbourg, Tunisie
3. Laboratoire du génétique Humaine, Faculté de Médecine de Tunis, Tunis, Tunisie
4. Service des Maladies Congénitales et Héréditaires, Hopital Charles Nicolle de Tunis, Tunis, Tunisie
5. IGBMC (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire), CNRS/INSERM/, Université de Strasbourg, Tunis, Tunisie
6. IGBMC (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire), CNRS/INSERM, Université de Strasbourg, Illkirch cedex, France
7. Service des Maladies Héréditaires et Congénitales, Hopital Charles Nicolle de Tunis, Tunis, Tunisie
8. Laboratoire de Génétique Médicale EA3949, Equipe AVENIR-Inserm, Université de Strasbourg, Faculté de Médecine, 11 rue Humann, 67000 Strasbourg, France, Faculté de Médecine de Strasbourg, Strasbourg, France

Le syndrome Bardet-Biedl (BBS) est une ciliopathie provoquant une atteinte multiviscérale. Elle est définie par un tableau clinique complexe qui associe une obésité, une rétinopathie pigmentaire, une polydactylie post-axiale, un hypogénitalisme, des difficultés d'apprentissage et une atteinte de la fonction rénale. Il existe d'autres signes cliniques dits mineurs comme le diabète, l'hypertension artérielle et la cardiopathie congénitale. La prévalence de BBS est de 1/160 000 en Tunisie, elle est de 1/125 000 à 1/175 000 en Europe et elle peut atteindre 1/ 17 000 (Bédouins du Koweït), 1/13 000 (Terre Neuve). Cette pathologie se transmet principalement selon un mode autosomique récessif. A ce jour 16 gènes (BBS1 à BBS16) sont décrits dans cette maladie. Matériels et méthodes: 11 familles tunisiennes de BBS qui présentent au moins un cas atteint sont recrutées au service des maladies héréditaires et congénitales de l'hôpital Charles Nicolle de Tunis. Au total les 16 gènes BBS, ainsi que d'autres gènes des ciliopathies sont séquencés. Résultats : L'analyse des résultats obtenus nous a permis d'identifier le gène en cause pour toutes les familles analysées. 11 mutations différentes dont 7 nouvelles ont été identifiées dans les gènes étudiés. 2 mutations non sens au niveau des gènes BBS1 et BBS2, 1 mutation faux sens dans le gène BBS5, 3 mutations de type frame shift dans les gènes BBS1, BBS4 et BBS10 et 5 mutations de type splice au niveau des gènes BBS1, BBS2, BBS6 et BBS8. Discussion: Cette étude présente le bilan de l'analyse moléculaire d'une cohorte de 11 familles Tunisiennes de BBS. L'identification de nouvelles mutations dans cette affection élargit le spectre mutationnel des gènes BBS dans la population Tunisienne et confirme l'hétérogénéité génétique de Bardet-Biedl syndrome. D'une autre part, on note l'existence de la même mutation chez plusieurs familles d'origine Tunisienne au niveau du gène BBS2 et BBS8 et la même mutation chez une famille Algérienne au niveau du gène BBS4 ce qui évoquerait l'hypothèse des mutations fondatrices dans la population Tunisienne et dans le Nord d'Afrique. Il serait donc nécessaire de continuer cette étude génétique avec d'autres familles atteintes de BBS afin de confirmer cette hypothèse. Les résultats obtenus auront un impact direct sur le diagnostic et le conseil génétique du Bardet-Biedl syndrome en Tunisie.

Mots clés : Syndrome de Bardet-Biedl, mutation, effet fondateur, conseil génétique

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P381 - ETUDE DE L'EXOME DU CHROMOSOME X DANS L'AUTISME

C Nava (1), B Keren (2), C Mignot (3), D Périsse (4), A Afenjar (3), A Jacquette (2), S Whalen (3), M Gérard (5), J Xavier (4), D Cohen (4), D Héron (2), A Brice (1), C Depienne (1)

1. CRICM, UPMC/Inserm UMR_S 975, CNRS UMR 7225, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Département de Génétique et Cytogénétique, Unité Fonctionnelle de Cytogénétique, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Département de Génétique et Cytogénétique, Unité Fonctionnelle de Génétique Clinique, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Service de Psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Unité fonctionnelle de génétique clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France

L'autisme est un trouble développemental caractérisé par un déficit des interactions sociales et de la communication et des comportements répétitifs et stéréotypés. En dépit de l'existence d'arguments forts en faveur de facteurs génétiques, la cause de l'autisme reste inconnue dans près de 90% des cas. Le déséquilibre important du ratio des sexes (4 garçons atteints pour une fille atteinte) permet d'envisager l'implication probable, dans certains cas d'autisme, de gènes du chromosome X.

L'objectif de ce projet était d'identifier de nouveaux gènes responsables d'autisme sur le chromosome X chez des patients dont l'histoire familiale était compatible avec une transmission liée à l'X.
Douze familles avec 2 ou 3 frères atteints ou 1 frère et son oncle maternel atteints ont été étudiées. Tous les cas index avaient bénéficié au préalable d'une recherche d'X fragile, d'une étude des Neuroligines 3 et 4X ainsi que d'un caryotype et d'une étude par puces à ADN, ces examens étaient normaux dans tous les cas.
Nous avons poursuivi par l'étude de l'exome du chromosome X par séquençage de nouvelle génération à partir de l'ADN du cas index de chaque famille.

En moyenne, 1100 variants/patient (961-1606) ont été identifiés, dont 150 (90-303) non référencés dans les bases de données, parmi lesquels 10 en moyenne modifiaient la séquence codante ou se situaient dans les sites d'épissage. Ces derniers ont été vérifiés par séquençage Sanger et la ségrégation familiale a été étudiée.
Dans 3 familles, une variation dans un gène déjà connu dans l'autisme ou le retard mental a été identifiée.
Dans 6 familles, 1 à 8 variants faux-sens ou non-sens étaient présents chez tous les atteints.
Dans 3 familles, nous n'avons pas identifié de variant modifiant la séquence codante ou se situant au niveau des sites d'épissage ségrégant avec la pathologie. Ces résultats suggèrent l'implication de variants introniques ou situés en 5 ou 3'UTR ou une cause non liée à l'X dans ces familles.

Cette approche nous a permis de définir des gènes candidats, dont l'étude est actuellement en cours dans notre cohorte de patients autistes ainsi que chez des témoins.
Nous espérons pouvoir ainsi identifier des gènes responsables d'autisme et aider à la compréhension des mécanismes physiopathologiques en cause.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P382 - ETUDE GENETIQUE ET ENVIRONNEMENTALE DE L'ATRESIE DES VOIES BILIAIRES EN POLYNESIE FRANÇAISE

S Bandiera (1), M Besnard (2), M Girard (3), A Henrion-Caude (4), E Jacquemin (5), AS Jannot (1), AL Leutenegger (6), S Lyonnet (1), M Sahbatou (7)

1. Inserm U781, Hopital Necker, Paris, France
2. Service de Pediatrie, Centre Hospitalier Territorial de Tahiti, Papeete, France
3. Inserm U781, Hopital Nceker, Prais, France
4. Insrem U781, Hopital Necker, Paris, France
5. Service d'Hépatologie pediatrique, Hopital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
6. Inserm U946, Institut Universitaire d'Hématologie, Paris, France
7. Fondation Jean Dausset, CEPH, Paris, France

L'atrésie des voies biliaires est une maladie rare et sévère de l'enfant entraînant une cirrhose biliaire. Elle est également la première cause de transplantation en pédiatrie. Les mécanismes physiopathologiques précis de cette maladie restent encore obscurs, mais de nombreux arguments plaident pour une maladie complexe faisant intervenir une prédisposition génétique et des facteurs environnementaux. Grace à une cohorte de patients atteints d'atrésie des voies biliaires, établie sur une période de 30 ans en Polynésie Française, nous avons pu étudier à la fois les facteurs environnementaux et génétiques de cette population.

Dans un premier temps, nous avons pu établir que l'incidence de l'atrésie des voies biliaires chez les Polynésiens était la plus élevée au niveau mondial. Nous avons de plus démontré que l'incidence de la maladie est liée à l'origine ethnique des patients, indiquant une probable prédisposition génétique complexe. Bénéficiant des conditions climatiques particulières de la Polynésie française, nous avons pu établir qu'il existe une saisonnalité des naissances d'atrésie des voies biliaires avec un maximum de naissances de patients pendant la saison humide à l'inverse de la population générale. Cette saisonnalité suggère l'influence de facteurs environnementaux intervenant dans la survenue de la maladie. Parallèlement, nous avons montré que la population Polynésienne étudiée est génétiquement homogène et peu mélangée, et qu'elle se distingue des Japonais, des Chinois et des Européens. Nous avons réalisé le génotypage de 24 patients Polynésiens et de leurs parents par puce pan-génomique de 250k, suivi d'une analyse de liaison nous permettant la mise en évidence d'un locus en 2p13.1 pour les patients nés en saison sèche.

Cette étude nous permet donc de conclure d'une part à la complexité génétique de la maladie et d'autre part à l'existence d'un locus de prédisposition lié à l'environnement, indiquant une susceptibilité vis-à-vis d'un facteur environnemental saisonnier chez les patients polynésiens.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P383 - LA FREQUENCE DES VARIANTS CYP3A5*1/*3 DANS LA POPULATION MAROCAINE ET LEUR INFLUENCE SUR LA DOSE DE TACROLIMUS REQUISE CHEZ DES PATIENTS TRANSPLANTES RENAUX

A Barkat (1), D Elkabbaj (2), F Elkerch (3), M ELMACHAD (4), FZ Laarabi (3), Z Oualim (2), A Sefiani (4)

1. Centre National de Référence en Néonatologie et en Nutrition, Hopital d'enfant, Rabat, Maroc
2. Néphrologie Dialyse et Transplantation Rénale, Hopital Militaire d'instruction Mohammed V, Rabat, Maroc
3. génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
4. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc

Les cytochromes P450 sont une superfamille d'enzymes d'oxydation, qui sont impliqués dans le métabolisme d'un grand nombre de substances endogènes ainsi que des produits chimiques exogènes. Le cytochrome P450 (CYP3A5) joue un rôle important dans le métabolisme d'un grand nombre de médicaments. La mutation la plus fréquente dans le gène CYP3A5 et qui affecte son activité, consiste en une transition G6986A dans l'intron 3. Dans cette étude, nous avons déterminé la fréquence allélique de l'allèle CYP3A5*3 dans un échantillon de la population marocaine, composée de 108 individus, dont dix patients transplantés rénaux. Les fréquences trouvé montrent que 8,33% (9/108) des sujets étaient homozygotes pour l'allèle sauvage (CYP3A5*1/*1), 37,04% (40/108) étaient hétérozygotes (CYP3A5*1/*3) et 54,63% (59/108) étaient homozygotes pour l'allèle muté (CYP3A5*3/*3). Par conséquent, le variant CYP3A5*3 était le plus fréquent avec une fréquence de 73,15%.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous avons évalué l'influence du polymorphisme CYP3A5 sur les doses requises de tacrolimus chez dix patients transplantés rénaux et recevant le tacrolimus comme unique traitement immunosuppresseur. Nos résultats ont montré que Durant les trois premiers mois suivant la transplantation, les doses de tacrolimus requises pour les patients hétérozygotes (CYP3A5*3/*1) étaient plus élevés par rapport aux homozygotes (CYP3A5*3/*3) (0133 ± 0026 contre 0,21 ± 0037 mg / kg / jour). Après le troisième mois la différence reste observée, ainsi la moyen des doses journalières de tacrolimus pour les patients porteurs des allèles CYP3A5*3/*3 et CYP3A5*/*3 était 0053 ± 0013 ± 0014 et de 0,08 mg / kg / jour, respectivement.

Cette première étude au Maroc permet de fournir des données génétiques concernant la fréquence des polymorphismes de CYP3A5 dans notre population et ouvre les perspectives pour développer d'autres études pharmacogénétiques pour une meilleure prise en charge des patients.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P384 - ADULT-ONSET SPINAL MUSCULAR ATROPHY: IDENTIFICATION OF A NEW GENE ENCODING A PROTEIN LINKED TO DNA-RNA METABOLISM

J Zhou (1), R Attali (2), E Salort-Campana (3), J Veillet (1), F Nolent (1), A Camus (1), P Saugier-Veber (4), J Pouget (5), J Melki (1)

1. UMR- 788, Inserm et Université Paris 11, Inserm et Université Paris 11, Le Kremlin-Bicêtre, France
2. Goldyne Savad Institute of Gene Therapy, Hadassah Hebrew University Medical Center-Mount Scopus, Jerusalem, Israel
3. Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires et de la SLA, Hôpital de La Timone, CHU Marseille, Marseille, France
4. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Faculté de Médecine, CHU Ch.Nicolle, Rouen, France
5. Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires et de la SLA, Hôpital de La Timone, CHU de Marseille, Marseille, France

In addition to the most common infantile forms of proximal SMA linked to SMN1 gene defect, adult-onset SMA has been reported (type IV). SMA type IV is clinically and genetically heterogeneous, some of them being linked to SMN1 gene mutations. The identification of new genes may help to elucidate the pathogenic mechanism responsible for motor neuron degeneration. A consanguineous family with three adult-onset SMA patients unlinked to SMN1 has been selected for the present study.

Whole genome scanning was performed by using Affymetrix 250K SNP microarrays in this family. Linkage analysis and homozygosity mapping allowed identifying a single locus in a region of 6.5Mb on chromosome 15q2. No gene responsible for motor neuron diseases mapping to this interval has been identified to date indicating that a new disease locus was found.

Targeted capture and massively parallel sequencing of the exome were performed on one patient using the 38 Mb SureSelect Human All Exon (Agilent) on the Illumina Genome Analyzer II (2x75 paired reads). Alignment of sequencing reads was performed using BWA. Variants have been selected using the Samtools software then annotated using Annovar software and filtered against dbSNPv131 data base. Variants have been selected when these were nonsynonymous, synonymous, splice acceptor or donor site mutations, or short coding insertions or deletions (indels). Variants were filtered against the mapping data.

No pathogenic variant was identified using regular criteria (at least 4 reads). By examining each exon of genes mapping to the candidate region using IGV software, a homozygous single nucleotide deletion in exon 4 of a gene leading to a frameshift and a stop codon 12 AA later was found. The poor coverage (2 reads) explained why this mutation was missed using regular criteria. This mutation was confirmed by Sanger sequencing. This mutation is homozygous in the affected siblings and both parents were carriers. This mutation was not found in 95 controls and in dbSNPv135. Gene analysis in 15 adult-onset SMA patients (including sporadic cases) has been performed. In another sporadic adult-onset SMA patient, a missense mutation was found in exon 2 of the same gene. This mutation was not found in 95 controls. These data indicate that this new gene is responsible for a subgroup of adult onset SMA.

Transcript analysis revealed an expression in all tissues examined. This new gene encodes a protein with strong homology with proteins involved in DNA/RNA metabolism.

The adult onset, the clinical phenotype (restricted to motor neurons) and the clear cut loss of function of the gene mutation found in the consanguineous family support the view that the encoded protein has a function specific to motor neurons. Elucidating the role of this protein, the potential link with the SMN protein and the identification of DNA/RNA targets should contribute to a better knowledge of motor neuron disease linked to DNA/RNA metabolism defect.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P385 - GENETIC BASIS OF SPINAL MUSCULAR ATROPHY ASSOCIATED WITH PROGRESSIVE MYOCLONIC EPILEPSY

J Zhou (1), J Veillet (1), FD Tiziano (2), M Bayes (3), F Nolent (1), S Servidei (4), E Bertini (5), Y Renda (6), C Brahe (7), IG Gut (3), H Topaloglu (6), J Melki (1)

1. UMR- 788, Inserm et Université Paris 11, Inserm et Université Paris 11, Le Kremlin-Bicêtre, France
2. Istituto di Genetica Medica, Istituto di Genetica Medica, Roma, Italie
3. CNAG, CNAG, Barcelona, Espagne
4. Istituto di Neurologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italie
5. Unit of Molecular Medicine, Ospedale Bambino Gesù Research Institute, Roma, Italie
6. Child Neurology Unit, Department of Pediatrics, Hacettepe University, Ankara, Turquie
7. Istituto di Genetica Medica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italie

Spinal muscular atrophy (SMA) is a clinically and genetically heterogeneous disease characterized by degeneration of lower motor neurons leading to progressive muscle paralysis. The most frequent form is linked to mutations of the SMN1 gene on Chr. 5q13. Genetically separate entities with additional features such as central nervous involvement have been described. A rare variant has been reported by several authors associating lower motor neuron disease and progressive myoclonic epilepsy (SMA-PME) in childhood. This condition is inherited as an autosomal recessive trait.

Our goal was to identify the gene responsible for this defined clinical entity. We collected three families with such phenotype, two of them having two affected children. Extensive metabolic investigation was normal and SMN1 gene was excluded. These data indicate that SMA-PME represents a clinically and genetically separate entity.

Whole genome scanning was performed by using Affymetrix 250K SNP microarrays in the two multiplex families, one of them being consanguineous. By using Merlin software, linkage analysis and homozygosity mapping allowed identifying two highly candidate loci on chromosome 8p21 and 13q12 (Z_{max}= 2.65, θ=0). Targeted capture and massively parallel sequencing of the exomes were performed on the index case of each family using the 36 Mb SeqCap EZ kit SR v1.2 (Nimblegen) on the Illumina Genome Analyzer IIx (2x76 paired reads). Alignment of sequencing reads was performed using BWA. Variants have been selected using the Samtools software then annotated using Annovar software and filtered against dbSNPv131 data base. Variants have been selected when these were nonsynonymous, synonymous, splice acceptor or donor site mutations, or short coding insertions or deletions (indels).

Variants were filtered against the mapping data and allowed identifying two distinct mutations within the same gene in the 3 families. The first one is a missense mutation confirmed by Sanger sequencing. Sanger sequencing covering the missense mutation was performed in 95 healthy individuals and no mutation was found. This mutation is homozygous in the patients of the two multiplex families. The second mutation is a deletion covering the whole gene and confirmed by real time PCR. These data indicate that mutations of this new gene are responsible for SMA-PME.

The identification of such gene should contribute to elucidate the molecular pathway linking myoclonic epilepsy to motor neuron disease. In addition, we will study the putative link of the pathogenic pathway found in SMA-PME with those already established in several motor neuron diseases which include alterations in DNA/RNA metabolism, axonal transport, intracellular trafficking or mitochondrial functions.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P386 - EXPLORATION MOLECULAIRE DES GENES ATP6V1B1ET ATP6V0A4 CHEZ DES PATIENTS TUNISIENS ATTEINTS D'ACIDOSE TUBULAIRE RENALE DISTALE MOLECULAR INVESTIGATION OF ATP6V1B1AND ATP6V0A4 GENES IN TUNISIAN FAMILIES WITH DISTAL RENAL TUBULAR ACIDOSIS (DRTA)

MG Ariceta Iraola (1), J Ben Chibani (2), H Bouzidi (3), L Castano (1), S Chouchane (4), D El Hayek (2), A Haj Khelil (2), S Hamami (4), GP Nanclares (1), M Troudi (5)

1. Néphrologie pédiatrique, Hôpital de Cruces, Barakaldo Bilbao, Espagne
2. Biologie Clinique "A", Faculté de Pharmacie, Monastir, Tunisie
3. Biochimie, CHU Tahar Sfar Mahdia, Mahdia, Tunisie
4. Néphrologie, CHU Fattouma Bourguiba Monastir, Monastir, Tunisie
5. Pédiatrie, Hôpital Ibn El Jazzar Kairouan, Kairouan, Tunisie

Exploration moléculaire des gènes ATP6V1B1et ATP6V0A4 chez des patients tunisiens atteints d'acidose tubulaire rénale distale

Molecular investigation of ATP6V1B1and ATP6V0A4 genes in tunisian families with distal renal tubular acidosis (dRTA)

El Hayek D1, Bouzidi H2, Chouchane S3, Hamami S3 Troudi M4, Ben Chibani J1, Ariceta Iraola MG5, de Nanclares GP5, Castaño L5 et Haj Khelil A1.

1 : Faculté de Pharmacie, Monastir, Tunisie ;
2 : CHU Tahar Sfar, Mahdia, Tunisie ;
3 : CHU Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie ;
4 : Hôpital Ibn El Jazzar, Kairouan, Tunisie.
5 : Hôpital de Cruces, Barakaldo-Bilbao, Espagne.

El Hayek D : premier auteur
Haj Khelil A : auteur présentant

Contexte et objectifs: L'Acidose Tubulaire Rénale Distale (dRTA) type 1 est causée par le défaut de sécrétion d'ions H+ dans les tubules distaux et se caractérise par l'incapacité d'acidifier l'urine à un pH inférieur à 5,5. L'acidose tubulaire rénale non traitée (ATR) peut entraîner des complications graves. Des défauts dans le gène de la sous-unité B1 de l'ATP6V1B1 et le gène de la sous-unité a4 de l'ATP6V0A4 provoquent respectivement la dRTA avec surdité et la dRTA avec audition préservée. Cependant, plusieurs patients avec des mutations de l'ATP6V0A4 ont développé une perte auditive, habituellement à l'âge adulte. Jusqu'à présent, il n'y a pas de grandes cohortes décrites de tunisiens porteurs de dRTA. Nous avons pour objectif d'identifier des défauts moléculaires des gènes ATP6V1B1 et ATP6V0A4 causant la dRTA dans des familles tunisiennes.

Méthodes: Nous avons réalisé des investigations moléculaires (PCR et séquençage) sur 14 patients provenant de 11 familles tunisiennes (dont 9 sont consanguins). Un patient avec une audition normale et trois avec un statut indéterminé, les autres montrent une perte auditive. Tous ont souffert d'épisodes de déshydratation, diarrhée, vomissements, troubles de croissance et néphrocalcinose.

Résultats: Sur le gène ATP6V1B1, deux mutations déjà reportées ont été trouvées chez 12 sujets: la mutation c.1155dupC observée à l'état homozygote chez 10 patients appartenant à 7 familles. Elle provoque la production d'un codon stop prématuré: c. 1155dupC (p.Ile386fs). La deuxième mutation, identifiée chez deux probants, située dans l'intron 2, affecte le site accepteur d'épissage c.175-1G> C. Tous les patients ont manifesté une perte auditive. Une nouvelle mutation dans l'exon 13 du gène ATP6V0A4 a été trouvée chez un patient avec une audition normale: c.1221delG (p.Met408CysfsX10). Une mutation non-sens déjà décrite c.16C> T/p.Arg6 * (ou p. Arg6Term) a été observée dans deux familles de cette série.

Conclusion: L'identification des mutations sur les gènes ATP6V1B1 ou ATP6V0A4 dans la population tunisienne permet de mieux diagnostiquer la dRTA, qu'elle soit associée ou non à une perte auditive.

Mots clefs : acidose, perte d'audition, mutation, ATP6V0A4, ATP6V1B1.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P387 - DETERMINANTS DU CHOIX DU CONJOINT ET STRUCTURE GENETIQUE DE LA POPULATION MAROCAINE

H HAMI (1), M LATIFI (1), A MOKHTARI (1), A SOULAYMANI (1)

1. Laboratoire de Génétique et Biométrie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Kénitra, Maroc

Introduction : Malgré les mutations subies par la société, les jeunes filles sont limitées dans le choix de leurs conjoints au Maroc. Les parents et la famille proche exercent des pressions sur l'individu en âge de se marier, notamment lors du premier mariage. L'objectif de la présente étude est d'identifier les déterminants des mariages consanguins au nord-ouest du Maroc - facteur qui a été associé à un risque plus élevé d'avoir des enfants soufrant de certaines maladies génétiques-.

Méthodes : L'étude s'appuie sur des données tirées d'une enquête conduite auprès des familles échantillonnées au hasard dans la région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaer.

Résultats : La pratique du mariage consanguin, d'après les données de l'étude, est associée au niveau de scolarité, au lieu de résidence (zone urbaine/rurale), au degré d'urbanisation du milieu d'enfance et à l'âge au premier mariage des deux futurs conjoints. Selon l'analyse multivariée des données, la probabilité de se marier avec un parent est significativement plus importante chez les femmes qui ont passé l'enfance à la campagne. D'ailleurs, selon les résultats, les femmes qui se marient à un âge jeune sont les plus susceptibles d'accepter ce type de mariage. Chez les hommes, ces deux variables n'ont toutefois aucun effet significatif.

Conclusion : Le choix d'un conjoint apparenté au Maroc est dicté certes par les besoins de solidarité familiale, mais aussi et surtout par des facteurs économiques, socio-culturels et démographiques.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P388 - ETUDE D'ASSOCIATION DE POLYMORPHISMES DE L'ADN MITOCHONDRIAL AVEC LE DIABETE DE TYPE 2 DANS LA POPULATION TUNISIENNE

S Hsouna (1), N Halim (2), K Lasram (2), W Ghazouani (2), H Azaiez (2), I Arfa (2), A Abid (3), N Miladi (4), S Abdelhak (2), R Kefi (2)

1. 1Unité de Recherche: Exploration moléculaire des maladies orphelines d'origine génétique, Institut Pasteur de Tunis et 3Unité de recherche: Maladies neurologiques de l'enfant, Faculté de Médecine de Tunis, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
2. Unité de Recherche: Exploration moléculaire des maladies orphelines d'origine génétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
3. Institut de Nutrition, Institut de Nutrition, Tunis, Tunisie
4. Unité de recherche maladies neurologiques de l'enfant, faculté de Médecine, Tunis, Tunisie

INTRODUCTION

Le diabète de type 2 (DT2) est une maladie métabolique complexe affectant environ 9% de la population tunisienne. L'expression phénotypique de la maladie peut être influencée par des facteurs environnementaux, par l'origine ethniques ainsi que par des mutations d'origine nucléaires et mitochondriales. Les études précédentes ont révélé un regroupement familial et une transmission maternelle chez les patients tunisiens DT2.

OBJECTIF

L'objectif de cette étude est de rechercher l'implication des variants mitochondriaux dans le DT2 dans la population tunisienne.

PATIENTS ET METHODES

Une étude cas - témoins a été menée sur 141 individus (64 patients atteints de DT2 et 77 témoins sains). Nous avons procédé au séquençage direct du fragment hypervariable I (HVSI). Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le programme STATA.

RÉSULTATS

L'analyse des séquences du fragment HVSI a mis en évidence la présence de 100 sites polymorphes. La distribution des deux variants A16160G et G16390A est différente entre les DT2 et les témoins. Le variant A16160G ($p = 0.02$) est présent uniquement dans le groupe de témoins (8.3%, 6/72). Le variant A16390G se trouve avec des fréquences plus élevée (15.9%, 10/63) chez les patients DT2 que chez les témoins (5.4%, 4/74) ($p = 0.04$). Une régression logistique multivariée avec ajustement selon le sexe, l'âge et le BMI montre que le variant G16390A n'est pas un facteur de susceptibilité au DT2, alors que le variant A16160G semble avoir un rôle protecteur contre le DT2 dans la population tunisienne.

CONCLUSION

L'étude d'association de polymorphismes de l'ADN mitochondrial avec le diabète de type 2 dans la population tunisienne a montré que le variant A16160G semble avoir un rôle protecteur contre le DT2. Il sera intéressant de compléter cette étude par l'analyse d'autres variants mitochondriaux notamment ceux au niveau du fragments HVS2.

POSTER

3. Pangénome, haut débit et génétique des populations

P389 - ETUDE DE LA DIVERSITE MITOCHONDRIALE CHEZ UNE POPULATION MAROCAINE (STUDY OF MITOCHONDRIAL VARIABILITY IN A MOROCCAN POPULATION)

A BARAKAT (1), S BOUNACEUR (1), M KANDIL (2), N LOUTFI (2)

1. laboratoire de Génétique Humaine, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc
2. Equipe des Sciences Anthropogénétiques et biotechnologies, Université Chouaib Doukkali, El Jadida, Maroc

Pendant de nombreuses années, les généticiens ont étudié les variations génétiques entres les individus et les populations dans le but de comprendre les différences et les éventuelles interactions historiques des peuples.

La diversité génétique d'une population peut être définie par de nombreux marqueurs biologiques, parmi les plus informatifs sont les marqueurs uniparentaux : l'ADN mitochondrial (ADNmt) et le chromosome Y. Les propriétés de l'ADNmt : un taux élevé de substitution, absence de recombinaison et transmission maternelle, font de cette molécule un outil biologique exploitable dans de nombreux domaine de recherche tels que l'évolution, l'anthropologie génétique, la médecine légale et la phylogénie.

La diversité de l'ADNmt est défini par diverses mutations dans la séquence ADN (notamment dans les fragments hypervariables HVSI et HVSII de la région contrôle mais aussi dans la région codante). Les combinaisons de ces mutations ou polymorphismes permettent de décrire différents haplotypes que l'on peut regrouper, d'après leurs relations phylogénétiques, en haplogroupes. Ces haplogroupes mitochondriaux sont répartis en différentes familles très fréquentes dans certaines régions géographiques voire même dans certaines populations.

La connaissance de la diversité mitochondriale des populations humaines marocaines permet de déterminer leurs origines et de tracer les voies de migrations qui ont été empruntées pour leur mise en place, ce qui contribuera à une meilleure compréhension du peuplement de l'Afrique du Nord. Par ailleurs, la connaissance de la structure génétique de ces populations et leurs relations phylogénétiques avec les populations méditerranéennes et du Proche Orient orientera la recherche des mutations récurrentes pour l'étude des maladies héréditaires.

Dans une étude préliminaire chez 120 individus marocains non apparentés sains; les résultats de séquençage de la région non codante (HVS I et HVS II) et la PCR-RFLPs de la région codante de l'ADNmt, ainsi que la comparaison de cette population avec d'autres géographiquement proches (notamment du sud-ouest de l'Europe, et des régions subsahariennes), révèlent que l'haplogroupe L présente une haute fréquence dans la population étudiée et que ce dernier est majoritairement présent dans les populations sub-saharienne, nous avons également trouvé que l'haplogroupe H est présent avec une fréquence modérée chez la population étudiée alors qu'il est très fréquent chez la population européenne, Tandis que les autres haplogroupes K, V, T, M, U, HV, Pré HV, R sont présent mais a des fréquences plus faible.

Nos résultats montrent que la population préalablement étudiée, occupe dans la diversité mitochondriale, une position intermédiaire entre les populations européennes et sub-sahariennes.

Mots clefs : ADNmt, HVS I, HVS II, haplotype, haplogroupe, Maroc.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P390 - RECHERCHE DE MUTATIONS DU PROTO-ONCOGENE RET CHEZ LES APPARENTES DE PATIENTS ATTEINTS DE NEM2.

A Chikouche (1), M Boudissa (2), M Aït Abdallah (1), B Aït Abdelkader (1), H Boumaza (1), K Sbahi (1), I Amara (1), A Kassoul (1), Y Oukaci (1), L Griene (1)

1. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Université d'Alger 1, Alger, Algérie
2. Service d'Endocrinologie, Centre Pierre et Marie Curie, Alger, Algérie

Introduction :

Les Néoplasies Endocriniennes Multiples de type 2 (ou NEM2), prédisposant au développement du cancer médullaire de la thyroïde (CMT), subdivisées en NEM2A, NEM2B et CMTF (cancer médullaire de la thyroïde familial), constituent une affection héréditaire rare autosomique dominante, liée aux mutations du proto-oncogène RET.

Objectifs :

- Rechercher chez les apparentés de cas index, porteur d'une mutation localisée dans les régions codantes (exons 8, 10, 11, 13, 14, 15 et 16) du gène RET, pour dépister de manière très précoce les personnes à haut risque ;
- Faire bénéficier ces sujets porteurs de la mutation familiale d'une surveillance étroite et d'une thyroïdectomie prophylactique.

Patients et Méthodes :

Notre étude a porté sur 51 sujets apparemment sains, appartenant à 13 familles de cas index porteurs d'une mutation du gène RET.

L'ADN des apparentés a été extrait selon la méthode phénol/chloroforme ou par les sels ; la recherche de la mutation été effectuée par séquençage direct des exons 8, 10, 11, 13, 14, 15 et 16 du gène RET.

Résultats :

45,1% des sujets apparemment sains (23/51), ont été retrouvés porteurs de la mutation familiale.

Conclusion

La recherche de la mutation familiale chez les apparentés d'un cas index de NEM2 s'avère très utile pour la prise en charge précoce des cas porteurs de cette mutation.

34,7%, des apparentés porteurs de la mutation familiale (8/23), ont bénéficié d'une thyroïdectomie prophylactique.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P391 - CANCER DU SEIN ET MUTATION DU GENE DE PREDISPOSITION BRCA2

A Chikouche (1), M Aït Abdallah (1), B Aït Abdelkader (1), H Boumaza (1), K Sbahi (1), I Amara (1), A Kassoul (1), Y Oukaci (1), L Griene (1)

1. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Université d'Alger 1, Alger, Algérie

Introduction:

Le cancer du sein est la première cause de décès par cancer chez la femme dans le monde.

6000 à 7000 nouveaux cas de cancer du sein par an sont estimés dans notre pays.

Ces cancers sont en majorité sporadiques, mais des facteurs génétiques tels que des altérations constitutionnelles des gènes BRCA1 et BRCA2 sont responsables de 5 à 10% des cancers du sein et/ou des ovaires.

Objectifs:

-Rechercher, par séquençage direct, des variations de séquence du gène BRCA2, susceptibles d'être responsables de la prédisposition au cancer du sein et/ou des ovaires;

-Proposer un diagnostic génétique aux femmes ayant une histoire familiale de cancer du sein et/ou de l'ovaire.

Matériel et méthodes:

1-Les patientes sont classées en 3 groupes:

1.1-Cancers familiaux: 05 cas, répartis dans 03 familles. Le diagnostic a été établi respectivement à l'âge de 43 ans (2), 40 ans (2) et 38 ans (1).

Les cas familiaux de cancers du sein et/ou des ovaires sont définis selon les critères suivants: 4 cas de cancers du sein et/ou des ovaires dont 2 apparentées au 1er degré ou 2 cas dont un bilatéral ou diagnostiqué à un âge précoce.

1.2-Cancers sporadiques : 05 cas

Le diagnostic a été établi à l'âge de 38 ans (3), 36 ans (1) et 28 ans (1)

1.3-Témoins : nous disposons d'un groupe de témoins dont l'âge moyen est de 35 ± 12 ans, indemnes de toute affection ou cancer qui nous permet d'identifier les polymorphismes retrouvés dans notre population pour les gènes BRCA1 et BRCA2 (autre étude).

2-Méthodes :

L'analyse moléculaire du gène BRCA2 est réalisée par séquençage direct sur ABI Prism 3130 (Applied) avec utilisation du Big Dye Terminator Version 1-1.

Le séquençage de BRCA2 a concerné les exons 10, 12, 14, 22 et 27, en raison de l'étude des polymorphismes retrouvés dans BRCA2 de notre groupe de témoins, réalisée en parallèle.

Résultats:

Nous ne rapportons dans cette étude que les résultats obtenus chez les patientes porteuses de cancers familiaux (5) ou de cancers sporadiques (5):

1-Aucune variation de séquence n'a été retrouvée chez nos 10 patientes, dans les exons 10, 12, 22 et 27 de BRCA2, en dehors des polymorphismes décrits dans la littérature ;

2-Une variation de séquence de l'exon 14, en dehors des polymorphismes connus, a été retrouvée chez une patiente (famille 2) du groupe des cancers du sein familiaux, variation responsable de la prédisposition familiale, précédemment décrite dans la littérature : délétion (c : del T 2366 stop) aboutissant à un décalage du cadre de lecture.

Cette mutation du gène BRCA2 est la première identifiée dans notre laboratoire.

Conclusions :

L'identification de cette mutation a permis de proposer une analyse génétique aux autres membres de la famille.

Cette analyse permet aux sujets encore asymptomatiques, porteurs de cette mutation, une surveillance appropriée, un diagnostic précoce et une éventuelle chirurgie prophylactique. Elle permet aussi de rassurer les apparentées indemnes de la mutation familiale.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P392 - FAISABILITE DE L'UTILISATION DE LA METHODOLOGIE DU PHOTOLANGAGE© DANS UN GROUPE DE PAROLES CHEZ DES FEMMES PORTEUSES D'UNE MUTATION BRCA1 OU BRCA2

I Coupier (1), A Combes (2), M Soulier (3)

1. Unité d'oncogénétique, CRLCC Val d'Aurelle, CHU Arnaud de villeneuve, montpellier, France
2. Unité d'oncogénétique, CRLCC Val d'Aurelle, CHU Arnaud de villeneuve, Montpellier, France
3. Unité de psycho oncologie, CRLCC Val d'Aurelle, Montpellier, France

Ayant l'expérience des groupes de paroles chez les femmes porteuses d'une mutation constitutionnelle délétère d'un gène BRCA1 ou BRCA2, nous avons souhaité tester la faisabilité de l'utilisation de la méthodologie du photolangage© chez ses femmes.

Le photolangage©, crée en 1965 par Claire Bélisle et Alain Baptise, est un outil de communication en groupe par la photographie et une méthode de travail de groupe et en groupe, qui donne la parole pour se construire. La photographie est un objet médiateur support de communication.

La méthode consiste à répondre à une question posée en choisissant des photographies. Ce travail comporte au minimum trois temps, le quatrième est facultatif : Temps 1 : présentation du travail au groupe (environ une dizaine de minutes) ; Temps 2 : choix individuel de photographies (de 5 à 10 minutes environ) ; Temps 3 : travail de groupe (de une à trois heures) ; Temps 4 : analyse du travail du groupe (en fonction des objectifs et du public concerné, minimum une demi-heure).

Notre étude de faisabilité a débuté par la création, durant deux ans, d'un jeu de 26 photographies. Les photographies ont été testées auprès de patientes. Par la suite, nous avons invité les patientes porteuses d'une mutation BRCA1 ou BRCA2, malades ou indemnes, à participer à un groupe paroles qui utilisera l'outil du photolangage©. Il s'agit d'un groupe fermé, qui se déroule mensuellement d'octobre à juin, d'une durée d'environ 1h30. Un groupe de 6 patientes a été mis en place. L'animation du groupe était assurée par un binôme médecin/ conseiller en génétique. Pendant l'année, les thèmes suivant on été abordés : vécu de l'annonce du résultat de l'analyse génétique, communication familiale et transmission de l'information, projet parental, la maladie-le cancer, la féminité-sexualité et la chirurgie prophylactique.

A l'issue de l'année, un questionnaire de satisfaction est complété par les patientes. Nous en retenons que les patientes sont très satisfaites de leur participation à ce groupe qui leur a apporté un mieux être, induit des changements dans leur relation avec leur proche et aidé certaines dans l'accompagnement de leur décision de chirurgie prophylactique. Le caractère fermé et structuré du groupe, le rythme et la durée des rencontres conviennent à l'ensemble des patientes, en créant de plus une cohésion et une complicité dans le groupe. Cependant, certaines souhaiteraient des rencontres plus fréquentes et/ou plus longues. Elles auraient souhaité avoir un plus grand choix de photographies.

En conclusion, l'utilisation de la méthodologie du photolangage© est faisable dans un groupe de paroles de femmes porteuses d'une mutation BRCA1 ou BRCA2 et satisfaisante pour les patientes. Actuellement, nous sommes en cours de prise de vue pour élargir le jeu de photographies jusqu'à 48 et envisageons à la suite la formation d'un nouveau groupe de paroles.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P393 - ANOMALIES GENETIQUES ET EPIGENETIQUES ASSOCIEES A L'INFERTILITE MASCULINE

A Barakat (1), A Bashamboo (2), E Chadli (3), A Eloualid (1), N Louanjli (4), K McElreavey (2), H Rhaissi (5), H Rouba (6)

1. Laboratoire de Génétique Humaine, Institut Pasteur du Maroc, casablanca, Maroc
2. laboratoire de Génétique du développement Humain, Institut Pasteur Paris, Paris, France
3. Laboratoire de Cytogénétique, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc
4. LABOMAC, Laboratoire des Analyses Médicales, Casablanca, Maroc
5. Laboratoire de Physiopathologie et Génétique Moléculaire, Faculté des Sciences Ben M'Sik, Casablanca, Maroc
6. Laboratoire de Génétique Humaine, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc

Environ 15% des couples consultent pour l'infertilité et une cause masculine est retrouvée dans 50% des cas. Il est probable qu'une proportion importante des cas comporte une composante génétique mais chez l'homme peu de gènes ont jusqu'à présent pu être directement liés à des phénotypes d'infertilité en raison du très grand nombre de gènes impliqués dans la spermatogenèse. Ainsi, des modifications épigénétiques au niveau des gènes soumis à empreinte ont été récemment associées à l'infertilité masculine.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'analyse génétique et épigénétique de patients marocains présentant une altération de la spermatogénèse. Nous avons recruté 910 patients infertiles et 450 témoins (fertiles). Après une étude clinique, nous avons effectué les caryotypes et extrait l'ADN lymphocytaire et /ou spermatique.

La recherche des microdélétions AZFa, AZFb, et AZFc du chromosome Y, qui sont les seules anomalies génétiques récurrentes connues bloquant la spermatogenèse ainsi que les délétions partielles de la région AZFc a révélé une association entre les délétions partielles b2/b3 et l'infertilité masculine.

L'analyse du gène MTHFR, élément essentiel à la provision de nucléotides nécessaires à la synthèse d'ADN et sa réparation, concerne deux polymorphismes C677T et A1298C et a montré une absence d'association entre le polymorphisme C677T et l'infertilité masculine, tandis que le polymorphisme A1298C présente une association significative.

La recherche d'anomalies génétiques a permis d'identifier des mutations et des polymorphismes dans les gènes AURKC affectant directement la méiose humaine et NR5A1 à l'origine de troubles sévères de la fertilité chez l'homme et a confirmé leur implication dans l'infertilité masculine.

Nous avons recherché des anomalies potentielles de méthylation au niveau des gènes soumis à empreinte parentale chez les sujets présentant une altération de la spermatogénèse. Les résultats obtenus montrent une hypométhylation dans le gène H19, par contre nous n'avons trouvé aucune hypermethylation dans le gène MEST.

Ce travail nous a permis de mettre en évidence l'implication des gènes AURKC et NR5A1 dans l'infertilité masculine et la présence d'anomalies de méthylation de l'ADN spermatique d'hommes infertiles.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P394 - ABSENCE D'UNE ASSOCIATION ENTRE LA MALADIE DE CROHN ET LES VARIANTS MAJEURS DU GENE NOD2 DANS LA POPULATION MAROCAINE

I HAMA (1), I RATBI (1), S REGGOUG (2), F ELKERCH (3), G KHARRASSE (2), I ERRABIH (2), H OUZZANI (2), A SEFIANI (1)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, Rabat, Maroc
2. Département de Médecine B, Hôpital Avicenne, Rabat, Maroc
3. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc

Introduction : La maladie de Crohn (MC) est une maladie inflammatoire chronique intestinale (MICI) de l'ensemble du tube digestif. C'est une maladie génétique complexe, dont le déterminisme repose sur des facteurs à la fois génétiques et environnementaux. Ces dernières années, plusieurs études d'association et de méta-analyses ont été publiées portant le nombre d'allèles de susceptibilité à plus d'une trentaine. Le gène NOD2/CARD15, en 16q, est un gène majeur de susceptibilité pour la MC avec 3 principaux variants (2 polymorphismes nucléotidiques: p.Arg702Trp et p.Gly908Arg et une mutation frameshift: p.Leu1007fsinsC) impliqués dans cette susceptibilité. Ces allèles sont surtout associés aux formes iléales et de début précoce. Au Maroc nous ne disposons pas de données concernant la fréquence allélique de ces variants dans la population marocaine et chez les patients atteints de la MC. Le but de notre étude est d'évaluer l'implication de ces trois variants dans la susceptibilité à la MC chez la population marocaine par une approche d'épidémiologie moléculaire, et de comparer nos résultats à ceux d'autres populations déjà étudiées.

Méthodes : Nous avons recherché les trois variants p.Arg702Trp, p.Gly908Arg et p.Leu1007fsinsC par PCR-séquençage chez 101 patients marocains atteints de la MC et 107 témoins sains.

Résultats : Présence des trois variants majeurs du gène NOD2 chez les patients marocains, mais sans aucune différence significative en comparaison avec le groupe de contrôles.

Conclusion : Notre étude préliminaire ne montre pas d'association entre le gène NOD2 et la maladie de Crohn dans la population marocaine.

Mots-clés : Maladie de Crohn, NOD2, CARD15, p.Arg702Trp, p.Gly908Arg, p.Leu1007fsinsC, mutation.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P395 - LES TUMEURS A CELLULES RENALES DITES « HYBRIDES ONCOCYTOME/CARCINOME CHROMOPHOBE » NE MONTRENT PAS UN PROFIL GENOMIQUE LES RATTACHANT AU CARCINOME CHROMOPHOBE

A Vieillefond (1), S Arrufat (2), N Pote (1), I Metzger (3), Ph Camparo (4), F Mège-Lechevallier (5), M Sibony (6), V Molinié (7), J Couturier (8)

1. Sce de Pathologie, Hôpital Cochin, Paris, France
2. Sce de Génétique oncologique, Institut Curie - Hôpital, Paris, France
3. Tumorothèque, Sce de Pathologie, Hôpital Cochin, Paris, France
4. Sce de Pathologie, Hôpital Foch, Suresnes, France
5. Sce de Pathologie, Hôpital Edouard-Herriot, Paris, France
6. Sce de Pathologie, Hôpital Tenon, Paris, France
7. Sce de Pathologie, Hôpital saint-Joseph, Paris, France
8. Sce de Génétique oncologique, Institut Curie, Paris, France

Objectif : Les tumeurs rénales dites Hybrides Oncocytome / carcinome Chromophobe (HOCh), ont été décrites initialement chez les patients porteurs du syndrome de Birt-Hogg-Dubé (BHD) ou d'une oncocytose rénale, mais elles ont été ont été observées récemment aussi de façon sporadique. Elles posent le problème de leur origine histogénétique et celui du diagnostic de malignité. Le profilage génomique a permis de préciser la classification des tumeurs rénales les plus fréquentes par l'identification de déséquilibres chromosomiques spécifiques ; l'objectif du travail est la caractérisation génomique des HOCh afin d'en clarifier l'origine.

Méthodes et Résultats : La revue histopathologique de 42 tumeurs appartenant au groupe des oncocytomes rénaux et des carcinomes chromophobes a amené à l'identification de 12 tumeurs HOCh pour lesquelles du tissu congelé était disponible, incluant 2 tumeurs de patients avec BHD. Après extraction, l'ADN de ces tumeurs a été analysé par array-CGH, sur puce NimbleGen 72K. Le profil génomique était équilibré dans 7 cas, incluant les 2 BHD, montrait des pertes de 1 ou de 1p éventuellement associées à un nombre limité de déséquilibres dans 4 cas, et un gain de 18 entier isolé dans 1 cas. En aucun cas, il n'a été vu, de pertes, même avec un faible ratio, caractéristiques des carcinomes chromophobes, impliquant les 2, 6, 10, 13, 17, et 21. De même, il n'a pas été observé de perte de seulement quelques uns de ces chromosomes.

Conclusion : Ces résultats montrent que les tumeurs dites hybrides oncocytome/carcinome chromophobe n'ont pas de lien avec les carcinomes chromophobes, ne peuvent pas être vues comme de réels hybrides, ni comme des formes de transition entre oncocytomes et chromophobes, et sont probablement à considérer comme des variants phénotypiques des oncocytomes. L'évolution clinique des patients de cette série, jointe à celle des patients de la littérature, montre que ces tumeurs partagent l'excellent pronostic des oncocytomes.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P396 - ETUDE DE CO-SEGREGATION FAMILIALE DES VARIANTS DE SIGNIFICATION BIOLOGIQUE INCONNUE DES GENES BRCA1/2 EN VUE DE L'OPTIMISATION DU CONSEIL GENETIQUE

S Caputo (1), L Castera (2), A Hardouin (3), A Remenieras (4), J Fournier (5), M Léone (6), M Guillaud-Bataille (7), E Rouleau (1), V Bourdon (4), O Caron (8), C Lasset (9), D Stoppa-Lyonnet (2), O Sininilkova (6), R Lidereau (1)

1. Oncogénétique, Institut Curie - Hopital René Huguenin, Saint-Cloud, France
2. Génétique oncologique, Institut Curie, Paris, France
3. Laboratoire de Biologie Clinique et Oncologique, Centre François Baclesse, Caen, France
4. Oncogénétique, Institut Paoli Calmette, Marseille, France
5. Oncologie, Centre Oscar Lambret, Lille, France
6. Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon - Centre Léon Bérard, Lyon, France
7. Génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
8. Consultations d'oncogénétique et du comité de Génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
9. Département de santé publique, Centre François Baclesse, Lyon, France

Les gènes BRCA1 et BRCA2 sont des gènes majeurs de prédisposition au cancer du sein et/ou des ovaires. Les mutations germinales affectant ces gènes sont des mutations inactivatrices qui augmentent de façon significative le risque de développer un cancer. La mise en évidence d'une mutation causale à partir d'un cas index (patient atteint d'un cancer le plus susceptible d'être porteur d'une mutation familiale) permet à l'oncogénéticien de proposer une prise en charge adaptée à tous les membres de la famille selon que les apparentés sont porteurs ou non de la mutation causale. A l'heure actuelle une mutation causale, utilisable pour le conseil génétique est mise en évidence dans ~13% des familles explorées. Des Variants nucléotidiques de Signification Inconnue (VSI) sont mis en évidence chez plus de 20% des patients testés. Pour ces familles, des tests génétiques ne peuvent pas être proposés aux apparentés et le conseil génétique est orienté par l'histoire familiale et sur des bases purement épidémiologiques.

La base de données nationale UMD-BRCA1/2, labellisée par l'INCa, permet depuis 1995, le recueil anonyme des résultats des études génétiques réalisées par les laboratoires français autorisés. En septembre 2011, UMD-BRCA1/2 regroupait 4713 familles pour BRCA1 et 5050 familles pour BRCA2 avec 1416 VSI dont 706 différents pour BRCA1 dans 1300 familles et 2276 VSI dont 1089 différents pour BRCA2 dans 2101 familles. Un des arguments essentiel et quantifiable pour le classement des VSI est leur co-ségrégation familiale avec la maladie (apparentés atteints de cancer du sein et de l'ovaire, porteurs du VSI et apparentés indemnes de cancer non porteurs du VSI). Une famille moyenne française étant de petite taille, l'informativité de la co-ségrégation du variant limitée à une seule famille est faible. Néanmoins, la compilation des résultats de co-ségrégation obtenus à partir de plusieurs familles permet, en appliquant la méthode des lod score, de calculer un score en faveur ou non du caractère causal du VSI étudié.

Le but de notre protocole de recherche COVAR (Coségrégation des VARiants) est d'organiser des études de co-ségrégation pour les VSI de la base UMD-BRCA1/2, sélectionnés selon plusieurs critères, afin de définir le caractère causal ou non de ces variants. Actuellement, nous avons recensés 194 VSI pour BRCA1 et 328 pour BRCA2 potentiellement éligibles au protocole COVAR.

Les estimations de probabilité que le VSI soit causal, seront calculées à partir des arbres généalogiques en utilisant un modèle statistique selon Thompson. Ces estimations seront affinées ensuite par l'utilisation du modèle multifactoriel décrit par D. Goldgar, tenant compte de nombreux critères, y compris les données concernant l'histoire familiale et les caractéristiques tumorales.

Le projet COVAR a pour but final de classer tous les VSI de la base nationale afin de savoir comment les utiliser pour le conseil génétique.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P397 - DES MARQUEURS EPIGENETIQUES IDENTIFIENT LES GLIOBLASTOMES MGMT-METHYLES FAIBLEMENT REPONDEURS A LA RADIOCHIMIOTHERAPIE A BASE DE TEMOZOLOMIDE (REGIME DE STUPP)

A Etcheverry (1), M Aubry (2), A Idbaih (3), Y Marie (3), P Menei (4), V Quillien (5), M Sanson (3), JY Delattre (3), J Mosser (1)

1. CNRS UMR6061, Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Pontchaillou, Rennes, France
2. Plate-forme Biogenouest Génomique Santé, Université de Rennes1, Rennes, France
3. INSERM, Unité 711, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Service de Neurochirurgie, CHU, Angers, France
5. CNRS UMR6061, Département de Biologie, CRLCC Eugène Marquis, Rennes, France

Introduction :

Le glioblastome (GBM) est la tumeur cérébrale primaire la plus fréquente et la plus agressive chez l'adulte. Son pronostic reste extrêmement péjoratif malgré l'utilisation d'une radiochimiothérapie post-chirurgicale à base de témozolomide (protocole standard). En dépit d'une très forte hétérogénéité (altérations moléculaires, agressivité, réponse au traitement) très peu de marqueurs ont été identifiés à ce jour. Parmi eux, le statut de méthylation du promoteur du gène MGMT est actuellement le meilleur marqueur prédictif de la réponse au traitement standard. Cependant, la méthylation du promoteur du gène MGMT ne s'observe que pour 25 à 45% des patients (selon les chiffres de l'EORTC), et il s'avère que 72% de ces patients ne répondent pas de manière optimale au traitement standard. L'objectif de cette étude est d'identifier des marqueurs pronostiques capables d'améliorer la stratification des GBM.

Matériel et Méthodes :

Nous avons mené une analyse globale et quantitative du niveau de méthylation de l'ADN (HumanMethylation27 beadchip, Illumina Inc.) de 50 GBM traités selon le protocole standard. Les performances des marqueurs épigénétiques les plus pertinents ont été validées sur 156 patients, traités selon le protocole standard, par une approche dédiée (VeraCode GoldenGate Methylation technology, Illumina Inc.).

Résultats :

L'analyse globale a permis d'identifier 61 marqueurs épigénétiques associés à la survie globale des patients. Parmi eux, deux marqueurs stratifient les patients MGMT-méthylés en trois groupes de survie globale (OS) significativement différentes (p=1.10-6) : un groupe de survivants à court terme (n=10, OS médiane=8 mois), un groupe de survivants à moyen terme (n=41, OS médiane=18.5 mois), un groupe de survivants à long terme (n=49, OS médiane=30 mois). Une stratification équivalente est observée sur la survie sans progression (PFS) (PFS médiane=7, 11 et 18 mois, respectivement).

Conclusion :

Grâce à un schéma expérimental combinant deux approches complémentaires, nous avons identifié deux marqueurs épigénétiques robustes qui permettent d'améliorer la stratification des GBM en trois catégories moléculaires selon le statut de méthylation du trois promoteurs. Ces trois marqueurs capturent une grande partie de l'hétérogénéité du méthylome des GBM et ils ont des applications directes au niveau du recrutement des patients et de l'interprétation des résultats dans les essais cliniques. Cette stratification peut également aider au conseil des patients et de leurs proches.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P398 - UNE CONSULTATION D'ONCOGENETIQUE DEDIEE AUX ENFANTS ATTEINTS DE CANCER.

A Deville (1), MP Frenay (2), V Mari (2), MA Met-Domestici (2), M Poirier (1), N Sirvent (3), C Soler (1)

1. Service d'oncologie pédiatrique, CHU de Nice, Nice, France
2. Service d'oncogénétique, Centre Antoine Lacassagne, Nice, France
3. Service d'oncologie pédiatrique, CHU de Montpellier, Montpellier, France

Les parents s'inquiètent de connaître une éventuelle cause héréditaire qui pourrait expliquer la survenue d'un cancer chez leur enfant.

L'unité d'oncogénétique du CAL et le service d'oncopédiatrie du CHU de Nice sont partenaires dans une consultation d'oncogénétique dédiée aux enfants atteints de cancer.

21 familles ont été adressées à la consultation d'oncogénétique depuis 2008.

La consultation d'oncogénétique pédiatrique permet de dépister des syndromes de susceptibilité héréditaire connus, de contribuer à la recherche sur cette thématique en onco-pédiatrie et de combler une incertitude anxiogène.

La portée psychologique de cette consultation est certaine et permet souvent une réassurance pour l'avenir.

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P399 - FAIBLE TAUX DE CONSANGUINITE CHEZ LES FAMILLES A HAUT RISQUE DE CANCER DU SEIN.

LOW LEVEL OF CONSANGUINITY IN FAMILIES AT HIGH RISK OF BREAST CANCER.

S Chafai Elalaoui (1), I Cherkaoui Jaouad (2), FZ Laarabi (3), BK Elgueddari (4), N Benjaafar (4), A Sefiani (5)
1. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc
2. Département de gentique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
3. Département de génétique médicale, Institut national d'Hygiène, Rabat, Maroc
4. Service de Radiothérapie, Institut National d'Oncologie, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc
5. Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc., Rabat, Maroc

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez les femmes dans le monde entier et constitue un problème majeur de santé publique. Ce cancer résulte d'une combinaison de facteurs génétiques et environnementaux. Les gènes à pénétrance forte ou faible sont désormais clairement impliqués dans la survenue du cancer du sein. Le plus important d'entre eux sont les gènes BRCA1/2. Toutes les femmes dans les familles à haut risque de cancer du sein ne développent pas de tumeurs, même quand ils portent la mutation familiale, suggérant ainsi l'existence de facteurs génétiques et environnementaux de protection. L'effet de la consanguinité sur la survenue ou non des tumeurs n'est pas encore clair. Plusieurs études ont montré que la consanguinité est liée à une diminution ou une augmentation du risque de cancer du sein, mais il n'existe aucune étude sur l'association entre la consanguinité et l'apparition de tumeurs chez les femmes ayant un risque élevé de cancer du sein. Pour des pays comme le Maroc où la consanguinité est fréquente, il semble important d'analyser cette association. L'objectif de cette étude est d'examiner si la consanguinité parentale dans les familles ayant une prédisposition génétique au cancer du sein affecte le risque de la descendance pour avoir ce cancer.

Matériels et méthodes: Sur une période de six ans, 72 patients de 42 familles différentes ont été recrutés pour le conseil génétique au département de génétique médicale, l'Institut National d'Hygiène, Rabat. Ces patientes avaient un diagnostic histologique du cancer du sein ou des ovaires. L'étude a été réalisée chez des femmes avec l'âge précoce du cancer (

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P400 - IDENTIFICATION DES MUTATIONS DANS LE GENE PMS2 CHEZ DES FAMILLES ATTEINTES DU SYNDROME HNPCC: L'INTERET DE L'ANALYSE DU TRANSCRIT

J AUCLAIR-PEROSSIER (1), MA COLLONGE-RAME (2), F DESSEIGNE (3), A DUMET (1), MO JOLY (4), D LEROUX (5), M LONGY (6), G MONTMAIN (1), E RUANO (1), JC SAURIN (7), S NOLET (8), Q WANG (1)

1. Plateforme Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents CLB-HCL, Centre Léon Bérard, Lyon, France
2. Service de Génétique, CHU Besançon, Besançon, France
3. Département de Médecine, Centre Léon Bérard, Lyon, France
4. Laboratoire Centre de l'Anatomie et Cytologie Pathologique, Hôpital Edouard Hérriot, Lyon, France
5. Département de Génétique et Procréation, CHU Grenoble, Grenoble, France
6. Service de Génétique, Institut BERGONIE, BORDEAUX, France
7. Spécialités Digestives, Hôpital Edouard Hérriot, Lyon, France
8. Laboratoire de pathologie moléculaire, Hôtel Dieu du CHUM, Montréal, Canada

Le gène PMS2 est l'un des gènes du système de réparation d'ADN mésapparié (MMR) impliqués dans le syndrome de Lynch (HNPCC). Des mutations germinales du gène PMS2 ont pu être identifiées dans environ 5% des familles atteintes. Il est également impliqué dans une forme particulière du syndrome de Lynch (Lynch 3 ou syndrome D-MMR) du à des mutations bi-alléliques. Cependant la fréquence de mutations du gène PMS2 est très probablement sous-estimée. En effet, il existe plusieurs pseudogènes qui partagent une forte homologie avec le gène authentique PMS2, ce qui rend la détection de mutation difficile. De plus, les gènes homologues favorisent les remaniements génomiques par recombinaison ou conversion génique. Du fait de cette complexité, la stratégie visant à identifier les mutations germinales dans ce gène nécessite des approches plus spécifiques.

Nous avons effectué la recherche des mutations dans le gène PMS2 dans une série de familles atteintes ou avec une suspicion du syndrome HNPCC chez qui le criblage sur d'autres gènes MMR (MLH1, MSH2, MSH6) s'est révélé négatif. Dans un premier temps, nous avons utilisé l'approche de séquençage direct sur tous les exons du gène PMS2 avec les amorces qui sont essentiellement des séquences différentielles entre le gène PMS2 authentique et des pseudogènes connus. Sur 70 patients analysés, des variations des séquences (mutation délétère ou variant de signification inconnu) ont été détectées chez 15 patients. L'analyse complémentaire par MLPA n'a révélé aucune anomalie génomique de grande taille. En tenant compte des limites des approches employées, nous nous sommes proposés d'approfondir l'étude, en analysant le transcrit du gène PMS2. Pour amplifier des fragments cDNA spécifiques du gène PMS2 nous utilisons des amorces localisées sur l'exon 10 absent du pseudogène PMS2CL, seul pseudogène donnant lieu à un transcrit. Ainsi 14 patients, qui ont une tumeur montrant un phénotype MSI-H et/ou avec une perte d'expression de la protéine PMS2 ont été analysés. Nous avons pu obtenir l'ARN après l'établissement d'une lignée lymphoblastöide ou à partir de prélèvement sur les tubes Paxgene. Nous avons détecté, chez 3 patients, des délétions/insertions des exons ou pseudo-exon conduisant à un transcrit aberrant. La caractérisation au niveau de l'ADN est en cours avec pour objectif d'éclaircir le mécanisme responsable. Notre étude suggère que l'étude de transcrit est une approche utile et complémentaire dans la recherche de mutations germinales du gène PMS2 et elle devrait être inclue dans le processus de criblage systématique. Enfin, l'identification des altérations génomiques responsables nous permettra de mieux comprendre les mécanismes qui sont très probablement liés à la spécificité de la structure du gène PMS2 et nous aidera à définir une meilleure stratégie du criblage à l'avenir au niveau de l'ADN.

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P401 - IDENTIFICATION ET ETUDE DU RETENTISSEMENT FONCTIONNEL DES PREMIERES MUTATIONS FAUX-SENS DE SOX10 DANS LE SYNDROME DE WAARDENBURG

V Baral (1), N Bondurand (1), A Chaoui (1), M Goossens (2), V Pingault (2), R Touraine (3), Y Watanabe (1)
1. INSERM U955, IMRB, Eq.11 et Université Paris-Est, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
2. INSERM U955, IMRB, Eq.11 et AP-HP, Service de Biochimie et Génétique, Hôpital H. Mondor - A. Chenevier, Créteil, France
3. Service de Génétique, CHU-Hôpital Nord, Saint-Etienne, France

Chez l'homme, plusieurs maladies congénitales affectant des organes et tissus divers ont pour origine une anomalie de migration, prolifération, différenciation ou survie des cellules de la crête neurale. Elles sont regroupées sous le terme de neurocristopathies. Parmi celles-ci, le syndrome de Waardenburg (WS), dû à une anomalie des mélanocytes dérivés de la crête neurale, provoque des défauts de pigmentation et une surdité. Il est subdivisé en quatre types (WS1 à WS4) en fonction des signes cliniques associés. Alors que l'association avec la maladie de Hirschsprung (HD, aganglionose intestinale) définit le WS4, l'absence d'autres signes cliniques caractérise le WS2. Plusieurs gènes ont déjà été impliqués, parmi lesquels SOX10. Depuis 1998, plus de 50 mutations hétérozygotes ont été décrites chez des patients présentant un WS2 ou un WS4, avec ou sans défauts de myélinisation du système nerveux central et périphérique (PCWH, Peripheral demyelinating neuropathy - Central dysmyelinating leukodystrophy - Waardenburg syndrome - Hirschsprung disease, ou PCW, PCWH sans HD). Les mutations identifiées jusqu'à maintenant sont, pour la plupart, des mutations tronquantes affectant un ou plusieurs domaines fonctionnels de la protéine. Seules trois mutations faux-sens étaient décrites.

Au cours des trois dernières années, nous avons identifié 11 nouvelles mutations faux-sens de SOX10 chez des patients présentant un WS2 ou un WS4, avec ou sans défauts neurologiques. Elles sont toutes localisées dans le domaine de liaison à l'ADN de ce facteur de transcription, parfois dans les séquences d'import-export nucléaire. Afin de valider l'effet délétère de ces mutations, nous avons entrepris l'étude du retentissement fonctionnel de chacune d'entre elles sur les principales caractéristiques de SOX10 : localisation subcellulaire, liaison à l'ADN et capacité de transactivation. Nous avons ainsi montré que certaines mutations provoquent une relocalisation cytoplasmique, d'autres altèrent la capacité de la protéine à lier l'ADN ou à activer différents gènes cibles de SOX10 au cours du développement entérique, mélanocytaire et glial. Contrairement aux données disponibles dans la littérature, les tests réalisés jusqu'à présent ne nous ont pas permis d'établir de corrélation entre le phénotype et les conséquences fonctionnelles observées. De façon intéressante, nous avons montré que la moitié des mutations induisent la formation d'inclusions nucléaires dont l'origine et la nature sont en cours de caractérisation.

A terme, nous espérons que ces observations nous permettront de définir de nouveaux domaines fonctionnels de SOX10 et améliorer notre compréhension des bases moléculaires et cellulaires du WS.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P402 - ETUDE GENESIS : QUATRE ANS D'INCLUSION !

S Eon-Marchais (1), M Marcou (1), L Toulemonde (1), MG Dondon (1), J Beauvallet (1), L Barjhoux (2), C Verny (3), E Cavaciuti (1), V Bonadona (4), H Sobol (5), C Noguès (6), O Caron (7), P Berthet (8), C Bonaïti (9), MC Babron (9), O Sinilnikova (3), N Andrieu (1), D Stoppa-Lyonnet (10)

1. Service de Biostatistique, Inserm U900 - Mines ParisTech - Institut Curie, Paris, France
2. Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon - UMR5201 CNRS, Lyon, France
3. Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon - UMR5201 CNRS - Centre Léon Bérard, Lyon, France
4. UMR CNRS 5558, Centre Léon Bérard, Lyon, France
5. Département d'Oncologie Génétique de Prévention et Dépistage -Inserm EMI 9939, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France
6. Laboratoire d'Oncogénétique, Centre René Huguenin - Institut Curie, Saint Cloud, France
7. Consultation d'Oncogénétique - Département de Médecine, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
8. Service d'Oncologie Génétique, Centre François Baclesse, Caen, France
9. Inserm U535, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France
10. Service de Génétique Oncologique, Inserm U830 - Université Paris Descartes - Institut Curie, Paris, France

Contexte et Objectifs

Le cancer du sein (CS) est une pathologie qui concerne environ 10% des femmes. Deux gènes, BRCA1 et BRCA2, ont été identifiés (Miki et al. 1994, Wooster et al. 1995) ; leurs mutations sont impliquées dans environ 5% des CS et seulement 15 à 20% des cas familiaux testés. 80% des cas familiaux restent inexpliqués. L'étude GENESIS a été mise en place pour identifier de nouveaux gènes de prédisposition et évaluer leur rôle dans l'apparition d'un CS ainsi que celui de facteurs non génétiques qui pourraient modifier leur effet. Ceci permettrait une meilleure prise en charge des femmes à risque. Nous proposons de présenter l'état d'avancement et un descriptif intermédiaire de GENESIS.

Données et Méthodes

GENESIS combine une étude de liaison génétique non paramétrique chez des paires de sœurs atteintes de CS, non porteuses d'une mutation des gènes BRCA et une étude d'association avec deux groupes témoins : sœurs indemnes et proches non apparentées (amies, collègues). L'effectif attendu est 1000 paires de sœurs et 4000 témoins. Le protocole est coordonné par le Centre Coordonnateur (CC)* et le Centre de Ressources Biologiques#. Les cas index sont invités par les consultants en génétique du Groupe Génétique et Cancer d'Unicancer. Le recueil de caractéristiques phénotypiques des cas (densité mammaire calculée à partir des mammographies, caractéristiques tumorales...) permettra de définir des endophénotypes et de diminuer ainsi l'hétérogénéité génétique au sein de la population d'étude. Des données épidémiologiques (facteurs gynéco-obstétriques, traitements hormonaux, habitudes tabagiques actives et passives, expositions aux radiations…) et des échantillons sanguins sont collectés.

État d'avancement

Le taux de participation des sœurs atteintes étant plus faible que celui attendu, il faut inclure 1820 cas index pour obtenir 1000 paires de sœurs atteintes. Pour cela, la fin des invitations des index a été prolongée jusqu'en décembre 2011 (fin 2012 pour les témoins) et des membres du CC se sont déplacés dans certaines consultations pour aider à identifier les cas index. En septembre 2011, 1846 cas index, 867 sœurs atteintes, 634 sœurs indemnes et 1597 amies ont accepté de participer et ont reçu un dossier d'inclusion. 76% ont renvoyé leur questionnaire, 78% ont fait leur prélèvement sanguin, 76% ont fourni des mammographies qui ont pu être numérisées. Afin d'augmenter la puissance de l'étude d'association, le protocole de GENESIS a été élargi en février 2010 aux index dont la sœur atteinte n'est pas disponible.

Perspectives

Le nombre d'inclusions actuel nous permet de lancer l'étude GENESIS-iCOGs dont l'objectif est de rechercher des variants génétiques prédisposant au CS et d'évaluer le rôle de facteurs non génétiques qui pourraient modifier l'effet de ces gènes dans la population de GENESIS.

Remerciements

GENESIS est soutenue par la Ligue Nationale Contre le Cancer depuis 2006 et par l'Institut National du Cancer depuis 2008.

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P403 - PREDISPOSITIONS GENETIQUES AU CANCER DU SEIN ET DE L'OVAIRE DANS LA POPULATION SUISSE : BILAN DE L'ACTIVITE ONCOGENETIQUE ET DU DEPISTAGE DE MUTATIONS CONSTITUTIONNELLES DANS LES GENES BRCA1/BRCA2 ENTRE 1996 ET 2009.

A Ayme (1), AE Murphy (1), M Rebsamen (2), G Benais-Pont (2), V Membrez (3), H Sobol (4), PO Chappuis (1)
1. Unité d'Oncogénétique et de Prévention des Cancers, Hôpitaux Universitaires de Genève, Genève, Suisse
2. Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, Hôpitaux Universitaires de Genève, Genève, Suisse
3. Département d'Oncologie Médicale, Hôpital de Sion, Sion, Suisse
4. Département d'Oncologie Génétique, de Prévention et Dépistage, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France

Introduction : Des mutations constitutionnelles de BRCA1 et BRCA2, principaux gènes de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire, ont été caractérisées dès 1994 et 1995. Depuis plusieurs années, l'analyse des gènes BRCA1/BRCA2 est proposée dans un cadre clinique. Aux Hôpitaux Universitaires de Genève (HUG), une consultation d'oncogénétique a été mise en place en 1996 pour les personnes concernées par l'évaluation de leur risque oncologique et/ou de porter une prédisposition génétique au cancer. Le but de ce travail est une revue systématique des familles dans lesquelles un dépistage complet de BRCA1/BRCA2 a été réalisé entre 1996 et 2009 dans un laboratoire national de référence localisé aux HUG.
Méthodologie : Toutes les familles avec une analyse complète de BRCA1/BRCA2 effectuée entre 1996 et 2009 ont été sélectionnées. L'évolution du nombre d'analyses, ainsi que la répartition de leur prescription en fonction des différents cantons, ont été étudiées. Les caractéristiques sociodémographiques et cliniques des cas index, ainsi que leurs antécédents familiaux ont été systématiquement revus. L'évaluation de la probabilité d'identifier des mutations BRCA1/BRCA2 a été calculée à l'aide des modèles BRCAPRO, BOADICEA, score de Manchester, tables Myriad, et PAT Score.
Résultats : Au cours de la période d'observation, une remarquable augmentation du nombre d'analyses et de médecins prescripteurs est notée : 53 dépistages entre 1996-99 et 259 dépistages en 2009 ; alors qu'un seul centre adressait les prélèvements au laboratoire en 1996-97, 10 centres étaient concernés en 2008-09. Le pourcentage de mutations identifiées par année est resté constant. Entre 1996 et 2009, 1164 dépistages complets BRCA1/BRCA2 ont été effectués et 334 (28.7 %) modifications identifiées (BRCA1 : 135 mutations ; 46 variants de signification inconnue (VSI) et BRCA2 : 86 mutations ; 67 VSI).
Une première évaluation complète a porté sur 260 cas index issus de 245 familles : 26 (10 %) sont asymptomatiques, 139 (53.5 %) ont présenté un cancer du sein, 25 (9.6 %) un cancer des ovaires et 70 (26.9 %) ont développé ≥ 2 tumeurs. Dans ce collectif, 65 (25 %) mutations ont été caractérisées (BRCA1 : n = 42 ; BRCA2 : n = 23). La présence chez les cas index d'un cancer de l'ovaire ou d'un cancer du sein récepteurs hormonaux négatifs/haut grade est statistiquement significativement associée à l'identification d'une mutation. Les principaux modèles de prédiction de la présence de mutations BRCA1/BRCA2 donnent des résultats similaires, à l'exception du PAT score qui est moins performant.
Conclusion : Ces résultats préliminaires illustrent l'implémentation dans un cadre clinique du dépistage des gènes BRCA1/BRCA2 en Suisse. La constitution d'une cohorte nationale de personnes portant des mutations ainsi qu'une aide pour les cliniciens, par exemple dans le choix du meilleur modèle permettant l'évaluation de l'existence d'une mutation, pourraient découler de cette étude.

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P404 - ANALYSE DU PROFIL GENETIQUE DES TUMEURS NEUROBLASTIQUES : APPORT PRONOSTIQUE ET CORRELATION GENOTYPE PHENOTYPE. GENETIC PROFIL ANALYSIS OF NEUROBLASTIC TUMORS : PROGNOSIS AND GENOTYPE PHENOTYPE CORRELATION.

S Trabelsi (1), D H'mida-Ben Brahim (1), S Mougou (1), I Chabchoub (2), M Chourabi (1), A Moussa (3), M Ben Brahim (4), M Gribaa (1), S Sassi (1), A Zakhama (3), S Ben Ahmed (2), A Nouri (4), A Saad (1)
1. Laboratoire de Cytogénétique de Génétique Moléculaire et Biologie de la Reproduction Humaines, Hôpital Farhat HACHED, Sousse, Tunisie
2. Service d'oncologie médicale, Hôpital Farhat HACHED, Sousse, Tunisie
3. Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Fattouma BOURGUIBA, Monastir, Tunisie
4. Service de Chirurgie Pédiatrique, Hôpital Fattouma BOURGUIBA, Monastir, Tunisie

Introduction : Le neuroblastome représente la deuxième tumeur solide la plus fréquente du jeune enfant, après les tumeurs du système nerveux central. Il s'agit d'un model oncogénique qui concrétise l'apport des études fondamentales notamment génétiques aux applications cliniques.

But : Le but de notre travail est d'établir une corrélation anatomoclinique et génétique chez 11 patients porteurs de tumeurs neuroblastiques à travers l'analyse des facteurs pronostics majeurs d'ordre génétique.

Matériel et Méthodes : Au cours de ce travail nous avons entrepris une étude transversale chez 11 patients ayant consulté durant la période allant de 1998 à 2010 et pour lesquels nous avons pu récupérer les échantillons tumoraux. Les 11 échantillons ont été analysés à la recherche de facteurs génétiques pronostiques majeurs à savoir l'amplification de l'oncogène N-myc, l'amplification du gène de la survivine (17q), et les délétions 1p et 11q. Les analyses génétiques ont été établies en mettant en place deux techniques de génétique moléculaire complémentaires: l'hybridation in situ chromogène (CISH) et l'amplification multiplexe de sondes ligation dépendantes (MLPA).

Résultat : Cette étude nous a permis d'établir une corrélation génotype phénotype entre la présentation anatomoclinique, la survie des patients et les profils génétiques des tumeurs analysées. Ce travail nous a par ailleurs permis de conclure quant à la pertinence de la stratégie moléculaire adoptée. Il s'agit en effet et conformément aux recommandations internationales d'une stratégie qui combine deux techniques moléculaires, dans notre cas CISH et MLPA.

Conclusion : L'utilisation simultanée de ces 2 techniques constitue une stratégie de routine adoptée au sein de notre laboratoire avec but ultime d'adapter la stratégie thérapeutique

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P405 - ETUDE DE L'IMPLICATION DES MIR-215/192/143 DANS LA SUSCEPTIBILITE A MALADIE DE CROHN CHEZ LA POPULATION MAROCAINE

I HAMA (1), I RATBI (1), S REGGOUG (2), F ELKERCH (3), G KHARRASSE (2), H OUZZANI (2), I ERRABIH (2), A Henrion caude (4), A SEFIANI (1)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, Rabat, Maroc
2. Département de Médecine B, Hôpital Avicenne, Rabat, Maroc
3. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
4. Inserm U781, Hopital Necker - Enfants Malades, Paris, France

Introduction : Les micro-ARN sont des ARN simple brin de 14 à 21 nucléotides, impliqués dans la régulation de l'expression des gènes en exerçant une répression post-transcriptionnelle par appariement à des ARN messagers, entrainant leur dégradation, par répression de leur traduction en protéines. Il existe plus de 900 miRNA connus (miRBase V15) à ce jour. Plus de 5000 SNPs peuvent créer ou détruire des sites miR-cible et l'implication de ces miRNA a été montré dans plus de 200 maladies génétiques, dont la maladie de Crohn, qui est une maladie inflammatoire chronique intestinale (MICI) de l'ensemble du tube digestif. La susceptibilité à cette maladie multifactorielle est complexe, impliquant des facteurs à la fois génétiques et environnementaux. Plusieurs gènes de susceptibilité à la MC sont connus, dont un gène majeur le NOD2/CARD15 en 16q. Il existe plusieurs variations au niveau du gène NOD2, dont particulièrement deux au niveau de la région 5'UTR : le variant rs5743296 reconnu par le miR-143 et le variant rs3135500, reconnu à la fois par les 2 miR-192 et miR-215, et qui ont été associés de manière significative à une susceptibilité à la MC dans certaines populations. Au Maroc nous ne disposons pas de données concernant la fréquence allélique de ces variants rs5743296 r et rs5743296 dans la population marocaine et chez les patients atteints de la MC. Le but de notre étude est d'évaluer l'implication de ces deux variants dans la susceptibilité à la MC chez les marocains par une approche d'épidémiologie moléculaire, et de comparer nos résultats à ceux d'autres populations déjà étudiées.

Méthodes : Nous avons recherché les deux variants rs5743296, et le rs3135500 par Q-PCR chez 101 patients marocains atteints de la MC et 107 témoins sains.

Résultats : Absence des deux variations de la région 5'UTR du gène NOD2 chez les patients marocains et chez le groupe de contrôles.

Conclusion : Notre étude préliminaire montre la non implication de ces trois miR dans la Susceptibilité à la maladie de Crohn dans la population marocaine.

Mots-clés : Maladie de Crohn, miR 215, miR192, miR143, rs3135500, rs5743296, mutation.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P406 - IMPLICATION DU GENE PALB2 DANS LES FORMES FAMILIALES DE CANCER DU SEIN ET/OU DES OVAIRES NON BRCA1/2 : CRIBLAGE PAR LA TECHNIQUE EMMA (ENHANCED MISMATCH MUTATION ANALYSIS).

I SCHULTZ (1), D MULLER (1), C CORDIER (2), J ABECASSIS (3), H NEHME (4), JP FRICKER (4)

1. Laboratoire d'oncogénétique, Centre de lutte contre le cancer Paul Strauss, STRASBOURG, France
2. Consultation d'oncogénétique, Centre de lutte contre le cancer Paul STRAUSS, STRASBOURG, France
3. Laboratoire de BiologieTumorale-Oncogénétique, Centre de lutte contre le cancer Paul Strauss, STRASBOURG, France
4. Consultation d'oncogénétique, Centre de lutte contre le cancer Paul Strauss, STRASBOURG, France

Les mutations constitutionnelles dans les gènes majeurs de prédisposition au cancer du sein, BRCA1 et BRCA2, contribuent pour moins de 25% des familles à fort risque de cancer du sein. Aussi une hétérogénéité génétique est suspectée pour expliquer les 80% de cas familiaux restant et plusieurs nouveaux gènes tels que CHEK2, ATM, RAD51…, dont les mutations seraient liées à une augmentation du risque de cancer du sein ont été rapportés.

PALB2 (Partner and Localizer of BRCA2 ou FANCN) représente également l'un de ces gènes et code pour une protéine partenaire d'interactions avec BRCA2. Les mutations constitutionnelles monoalléliques de PALB2 ont été rapportées dans 1-3% des formes précoces et des formes familiales de cancer du sein et sont associées à un risque relatif modéré de cancer du sein de 2,3.

Nous présentons les résultats d'un criblage exhaustif du gène P ALB2 par la technique de détection EMMA (Enhanced Mismatch Mutation Analysis), chez 206 cas index de familles originaires du Nord-Est de la France et pour lesquels l'analyse exhaustive des gènes BRCA1/2 s'est révélée non informative.

La technique EMMA permet un criblage du gène, comportant 13 exons, à partir de PCR multiplexes dont les hétéroduplexes seront séparés par une matrice non dénaturante sur séquenceur automatique. La méthode a été validée par le séquençage direct des exons du gène pour 127 des 206 cas index analysés. Aucune discordance n'a été observée. Une population contrôle de 70 cas a également été analysée.

Nous avons ainsi détecté une mutation tronquante dans une famille comportant 3 cas de cancer du sein et un cas de cancer de l'ovaire. Le détail des mutations et variants identifiés sera présenté.

Cette étude rapporte pour la première fois le criblage du gène PALB2 pour des familles françaises de cancer du sein/ovaire et l'intérêt de la technique EMMA pour le criblage de gène.

Mots-clés : PALB2, Cancer du sein, gène de prédisposition

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P407 - RECHERCHE D'ALTERATIONS CONSTITUTIONNELLES DES GENES DES MICROARN DU RESEAU P53 CHEZ DES PATIENTS EVOCATEURS D'UN SYNDROME DE LI-FRAUMENI SANS MUTATION DETECTABLE DU GENE TP53

D Comte (1), J Aury-Landas (2), G Bougeard (1), M Tosi (3), L Brugières (4), O Caron (5), B Bressac-de Paillerets (6), JM Flaman (1), T Frebourg (7), I Tournier (3)

1. Inserm U614, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie, Rouen, France
2. Inserm U614, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie, Cancéropole Nord-Ouest, Rouen, France
3. Inserm U614, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie, Cancéropole Nord-Ouest, Rouen, France
4. Département de Pédiatrie, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
5. Département de Médecine, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
6. Département de Génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
7. Inserm U614 et Département de Génétique, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie et CHU, Rouen, France

Le syndrome de Li-Fraumeni (LFS) représente l'une des formes Mendéliennes de cancer les plus graves, compte-tenu du large spectre tumoral (sarcomes, ostéosarcomes, tumeurs du système nerveux central, cancers du sein...) et de la précocité de survenue des tumeurs. Ce syndrome résulte de mutations constitutionnelles du gène suppresseur de tumeurs TP53. Grâce à un recrutement national, plus de 1 000 familles évocatrices du LFS ont bénéficié à ce jour d'une analyse moléculaire du gène TP53, ce qui a permis d'identifier une mutation chez 162 familles. Une grande partie des familles évocatrices d'un LFS reste cependant sans base moléculaire identifiée. Récemment, un réseau de régulation a été décrit entre p53 et des microARN, petits ARN régulateurs non codants (miRNA). Compte tenu des propriétés « suppresseur de tumeur » ou « oncogénique » décrites pour certains microARN de ce réseau, nous avons entrepris d'évaluer la contribution d'altérations constitutionnelles des gènes de ces miRNA dans les familles évocatrices d'un syndrome LFS sans mutation détectée de TP53. Nous avons constitué une cohorte de 30 familles très évocatrices d'un syndrome LFS sans mutation détectée de TP53. Dans un premier temps, nous avons recherché chez ces familles des variations du nombre de copies (CNV) des gènes des microARN du réseau TP53 à l'aide d'une lame de CGH à façon à haute résolution focalisée sur les miARN. Cette lame contient 180 000 sondes distribuées dans 939 régions de 60 kb entourant chaque microARN décrit du génome humain et offre ainsi la possibilité d'analyser des miRNA potentiellement importants pour la cancérogenèse mais pas encore décrits dans le réseau p53. Nous avons détecté à l'aide de cette technique 12 CNVs de petite taille non décrits dans la Database of Genomic Variants. Parmi ces CNVs, 3 emportent les séquences des miRNA et un de ces CNVs correspond à une délétion à l'état hétérozygote touchant un microARN du réseau p53 connu pour ses propriétés suppresseur de tumeur. Nous avons montré par la technique de QMPSF que cette délétion est un événement rare en population Caucasienne (non détecté chez plus de 500 témoins) et absent dans une cohorte de 150 patients évocateurs d'un syndrome LFS sans mutation détectée de TP53. Nous avons entrepris le séquençage de ce locus chez 120 familles évocatrices d'un LFS sans mutation de TP53 et avons mis en évidence plusieurs variants rares dont l'impact fonctionnel est en cours d'analyse.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P408 - RARETE ET FAIBLE PENETRANCE DES MUTATIONS GERMINALES DE ALK CHEZ LES ENFANTS ATTEINTS DE NEUROBLASTOME

Fra Bourdeaut (1), L Brugieres (2), AS Defachelles (3), O Delattre (4), S Ferrand (5), M Gauthier-Villars (6), B Isidor (7), I Janoueix-Lerosey (4), L Ludovic (8), G Pierron (5), M Poiree (9), X Rialland (10)

1. INSERMU830 et département de Pédiatrie, Institut Curie, Paris, France
2. Départment de pédiatrie, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
3. Département d'oncologie pédiatrique, Centre Oscar Lambret, Lille, France
4. INSERM U830 Laboratoire de Génétique et Biologie des Cancers, Institut Curie, Paris, France
5. Unité de génétique somatique, Institut Curie, Paris, France
6. Département de génétique oncologique, Institut Curie, Paris, France
7. Service de génétique, CHU Nantes, Nantes, France
8. Département de Biologie et Pathologie Médicales, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
9. Service d'oncologie pédiatrique, CHU Nice, Nice, France
10. Service d'hémato-oncologie pédiatrique, CHU Angers, Angers, France

Les tumeurs neuroblastiques peuvent survenir dans un contexte de prédisposition. Les mutations de PHOX2B sont observées dans les cas familiaux et fréquemment associées à d'autres neurocristopathies (Ondine, Hirschsprung) ; les mutations de ALK sont essentiellement observées dans les tumeurs familiales. Nous avons évalué la fréquence des mutations de ces deux gènes chez des patients présentant un risque présumé élevé de prédisposition.
Méthodes : Nous avons séquencé les 2 gènes dans 26 cas périnataux (prénataux et

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P409 - ANALYSE FONCTIONNELLE DES EFFETS DES VARIATIONS DE SIGNIFICATION INCONNUE SUR L'EPISSAGE DE L'EXON 7 DU GENE DE PREDISPOSITION AUX CANCERS DU SEIN ET DE L'OVAIRE BRCA2

P Gaildrat (1), S Krieger (2), J Abdat (2), F Révillion (3), D Digiacomo (4), D Vaur (2), E Jamard (2), S Caputo (5), JP Peyrat (3), V Moncoutier (6), E Rouleau (5), C Houdayer (7), R Lidereau (5), T Frebourg (8), A Martins (9), A Hardouin (2), M Tosi (4)

1. Inserm U614 et Département de Génétique, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie et CHU, Cancéropole Nord-Ouest, Rouen, France
2. Laboratoire de Biologie Clinique et Oncologique, Centre François Baclesse, Cancéropôle Nord-Ouest, Caen, France
3. Laboratoire d'Oncologie Moléculaire Humaine, Centre Oscar Lambret, Cancéropôle Nord-Ouest, Lille, France
4. Inserm U614, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie, Cancéropole Nord-Ouest, Rouen, France
5. Service d'Oncogénétique, Institut Curie, Hôpital René Huguenin, St Cloud, France
6. Service de Génétique, Institut Curie et Université Paris Descartes, Paris, France
7. Service de Génétique, Institut Curie et Université Paris Descartes, paris, France
8. Inserm U614 et Département de Génétique, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie et CHU, Rouen, France
9. Inserm U614, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie, Rouen, France

L'interprétation des variations de signification inconnue (VSI) représente un défi majeur en génétique médicale, et plus particulièrement en oncogénétique. Une fraction importante de ces VSIs pourrait affecter le processus d'épissage de l'ARN, soit du fait de la modification des sites canoniques d'épissage, soit via l'altération d'éléments de régulation de type « Exonic Splicing Enhancer » (ESE) ou « Exonic Splicing Silencer » (ESS). Dans une précédente étude, nous avons examiné l'effet sur l'épissage de 53 VSIs identifiés dans les gènes de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire, BRCA1 et BRCA2 (Thery et al, Eur. J. Hum. Genet., 2011). Ces travaux ont notamment permis de montrer que le VSI BRCA2 c.520C>T (p.Arg174Cys), localisé sur la 4ème base de l'exon 7, est à l'origine d'un saut d'exon (r.517_631del, p.Gly173SerfsX19), évalué à 70% d'exclusion. De plus, il a été montré récemment que la mutation non-sens c.581G>A (p.Trp194X), localisée au centre de l'exon 7 de BRCA2, était responsable du saut de l'exon (Biswas et al, Blood, 2011). Nous avons donc émis l'hypothèse que l'inclusion de l'exon 7 de BRCA2 serait soumise à un contrôle important, mettant en jeu plusieurs éléments exoniques de régulation de l'épissage. A l'aide du test fonctionnel minigène d'épissage, les effets sur l'épissage des VSI identifiés sur cet exon (115 pb) et répertoriés dans la base de données française (10 VSI) ont été examinés. Cette étude a permis de mettre en évidence un effet sur l'épissage pour 2 nouveaux VSI de l'exon 7 de BRCA2, à distance des sites canoniques d'épissage. Ainsi, au total, 4 VSI de l'exon 7 de BRCA2 sont responsables d'un défaut de l'épissage, avec des pourcentages différents d'exclusion de l'exon. Pour 2 de ces VSI (BRCA2 c.520C>T et c.617C>G), une analyse par RT-PCR sur l'ARN du sang des patientes a été possible et confirme ces résultats. Par pyroséquençage nous avons pu quantifier précisément, à partir de l'ARN du sang des patientes, la contribution de chaque allèle muté, 23% et 35% respectivement, dans la production du transcrit BRCA2 avec exon 7. L'ensemble de ces résultats suggère que l'exon 7 de BRCA2 est soumis à une régulation fine de l'épissage, dont l'équilibre peut être perturbé par des mutations ponctuelles identifiées chez les patients. Dans ce contexte, nous avons aujourd'hui entrepris une cartographie systématique des éléments de régulation dans cet exon. De plus, les données acquises lors de cette étude devraient également contribuer à l'évaluation des différents algorithmes de prédiction sur les éléments de régulation. La caractérisation de cette série de VSI représente également une opportunité pour aborder la problématique de la classification des variants en fonction du taux d'exclusion d'exon.
Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un projet de recherche translationnelle, avec le soutien de l'INCa.

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P410 - IDENTIFICATION ET CARACTERISATION D'UNE MUTATION DANS L'INTRON 12 DE BRCA2 ENTRAINANT L'INCLUSION D'UN PSEUDO-EXON.

IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF AN INTRON 12 BRCA2 MUTATION THAT CAUSES ACTIVATION OF A PSEUDOEXON.

O ANCZUKOW (1), M BUISSON (1), M LEONE (2), C COUTANSON (2), C LASSET (3), S MAZOYER (1), OM SINILNIKOVA (2)
1. Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Centre Léon Bérard, LYON, France
2. Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Centre Hospitalier Universitaire de Lyon / Centre Léon Bérard, LYON, France
3. Equipe de Prévention et Epidémiologie Génétique, Centre Léon Bérard, LYON, France

Les mutations germinales dans les gènes BRCA1 et BRCA2 prédisposent aux cancers du sein et de l'ovaire. Les tests réalisés dans notre laboratoire de diagnostic sont complétés, pour les familles à haut risque de cancer du sein et/ou de l'ovaire pour lesquelles aucune mutation n'a été identifiée dans les séquences codantes et les jonctions exon/intron, par une analyse des transcrits afin d'identifier d'éventuelles anomalies d'épissage. Nous avons ainsi observé chez une patiente au cours d'une de ces analyses l'inclusion aberrante d'un exon cryptique entre les exons 12 et 13 dans une fraction des transcrits BRCA2. Cette inclusion est la conséquence de la présence d'une mutation dans l'intron 12, à distance des jonctions exon/intron (IVS12+594T>G). L'inclusion de ce pseudoexon de 95 nucléotides introduit un codon de la terminaison prématurée. Ces transcrits mutés sont difficiles à détecter en absence de traitement par un inhibiteur de la traduction, car vraisemblablement dégradés par le mécanisme NMD (Nonsense-Mediated mRNA Decay). Une fois caractérisée, cette mutation a pu être recherchée spécifiquement par une approche PCR à partir de l'ADN génomique d'environ 2000 patientes BRCA1/BRCA2 négatives, ce qui a permis d'identifier 7 familles positives supplémentaires.
La mutation IVS12+594T>G se produit en position +5 d'un site donneur d'épissage identifiés par deux outils de prédiction in silico, « Splice Site Prediction by Neural Network, Splice Site Finder » (SSF) et « MaxEntScan » (MES). La mutation renforce grandement le score de ce site, le mettant pratiquement au niveau optimal. Le site accepteur utilisé pour l'inclusion du pseudo-exon a un score élevé mais ces sites ne sont utilisés que quand la mutation est présente, ce qui peut s'expliquer par le fait que le pseudo-exon contient plusieurs séquences « silencer » et peu de séquences « enhancer » d'épissage potentielles comparativement aux exons 12 et 13 de BRCA2.
La construction d'un minigène contenant les exons 12 et 13 ainsi que l'intron 12 de BRCA2 avec ou sans mutation, montre que l'inclusion du pseudoexon après transfection transitoire est bien la conséquence de la présence de la mutation IVS12+594T>G. Nous avons également montré que la transfection simultanée d'oligonucléotides spécifiques du site donneur ou accepteur de ce pseudo-exon bloque son inclusion, ce qui chez les patientes permettrait de rétablir la trame de lecture du gène BRCA2 muté et entrainerait la production d'une protéine sauvage. L'utilisation de ce type d'approches modifiant l'épissage pourrait donc éventuellement être envisagée à des fins thérapeutiques dans ce cas particulier.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P411 - EXPRESSION DES MIRNAS DANS LES TUMEURS DES GAINES NERVEUSES ASSOCIEES A LA NEUROFIBROMATOSE DE TYPE 1

I Bieche (1), I Laurendeau (1), K Leroy (2), J Masliah-Planchon (1), N Ortonne (2), B Parfait (1), E Pasmant (1), L Valeyrie-Allanore (3), D Vidaud (1), M Vidaud (1), P Wolkenstein (3)

1. UMR745 INSERM, Université Paris Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris, France
2. Département de Pathologie, Hôpital Henri Mondor, AP-HP, Créteil, France
3. Service de Dermatologie, Hôpital Henri Mondor, AP-HP, Créteil, France

Introduction : La neurofibromatose de type 1 (NF1) compte parmi les maladies héréditaires à transmission autosomique dominante les plus fréquentes. Le gène NF1, impliqué dans la maladie, code une protéine GAP (GTPase-activating protein) qui agit comme un suppresseur de tumeur en régulant de façon négative les voies de signalisation médiées par les protéines Ras et impliquées dans la prolifération cellulaire. La perte de fonction du gène NF1 est ainsi associée à une prédisposition à développer des tumeurs des gaines nerveuses aussi bien bénignes (neurofibromes cutanés et neurofibromes plexiformes) que malignes (neurofibrosarcomes ou MPNSTs). Les miRNAs sont de petits ARNs simple brin non codants qui régulent l'expression génique en inhibant la traduction en protéine. Ils sont impliqués dans de nombreux processus biologiques et apparaissent fréquemment dérégulés dans divers types de tumeurs. Objectif : Analyser l'expression des miRNAs dans les différents types de tumeurs des gaines nerveuses associées à la NF1. Matériels et méthodes : L'expression de 377 miRNAs a été analysée à partir de 9 neurofibromes cutanés, 41 neurofibromes plexiformes et 15 MPNSTs. Après reverse transcription à partir de l'ARN total extrait des différentes tumeurs, chaque miRNAs a été quantifié en combinant une technologie microfluidique à une PCR quantitative en temps réel avec des sondes TaqMan (Applied Biosystems). L'expression des 377 miRNAs a ensuite été comparée dans les différents types de tumeurs par un test de Mann-Whitney. Résultats : Onze miRNAs sont significativement dérégulés dans les neurofibromes plexiformes comparativement aux neurofibromes cutanés. Deux de ces miRNAs ciblent les anti-oncogènes ATM et PTEN. 106 miRNAs sont significativement dérégulés dans les MPNSTs par rapport aux neurofibromes plexiformes. Parmi ces miRNAs, plusieurs interviennent dans l'EMT (epithelial-mesenchymal transition), la régulation de l'expression des gènes HOX, du cycle cellulaire ou de la voie de signalisation PI3K-AKT. Conclusion : L'étude du microRNAome constitue l'un des éléments d'une approche de génomique intégrée actuellement développée pour mieux comprendre la physiopathologie des tumeurs des gaines nerveuses. Les gènes cibles identifiés par l'analyse du microRNAome seront validés in vitro dans un modèle de culture primaire de cellules de Schwann issues de neurofibromes plexiformes de patients atteints de NF1.

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P412 - RECHERCHE DES MUTATIONS ITD ET D835 DU GENE FLT3 DANS LA LAM A CARYOTYPE NORMAL
SEARCH ITD AND D835 MUTATIONS IN FLT3 GENE IN AML WITH NORMAL KARYOTYPE

H DEHBI (1), S Nadifi (1), A Quessar (2)
1. Laboratoire de Génétique et Pathologie Moléculaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca, CASABLANCA, Maroc
2. Service d'hématologie et d'oncologie pédiatrique, Hôpital 20 Août, Casablanca, Maroc

La cytogénétique et la biologie moléculaire sont devenues depuis longtemps des outils indispensables dans la prise en charge des hémopathies malignes, et particulièrement dans la leucémie aigue myéloïde (LAM). Ils complètent le diagnostic et sont utiles au pronostic et aux nouveaux protocoles thérapeutiques. Les LAM à caryotype normal (NK) sont restées pendant longtemps de pronostic et d'évolution aléatoire, mais aujourd'hui, le statut mutationnel du gène FLT3 en plus des gènes CEBPA, NPM1 permet de déterminer le groupe de bon ou mauvais pronostic. La présence de la mutation ITD (internal tandem duplication) et ou de la mutation ponctuelle D835 du gène FLT3 assombri le pronostic des patients de LAM à NK, pour lequel même une thérapie plus agressive n'améliore pas leur survie, et peuvent uniquement bénéficier –éventuellement- d'une allogreffe en première rémission complète.
Nous rapportons dans ce travail, une étude préliminaire de la recherche des deux mutations ITD et D835 du gène FLT3 chez 20 patients marocains ayant une LAM à NK. Le diagnostic a été retenu, sur les critères cliniques et cytogénétique et immuno-phénotypique.
L'ADN génomique a été extrait à partir de culot culots cytogénétiques et la recherche des mutations ITD et D835 a été faite par PCR et PCR-RFLP respectivement, le gène BCL2 a été utilisé comme gène de control. La mutation ITD a été retrouvée chez 4 patients, alors que la mutation D835 n'a été retrouvée que chez un seul cas. Nos résultats bien que préliminaires, ont permis de mettre à la disposition des hématologues un outil moléculaire pour d'orienter le choix thérapeutique.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P413 - CRIBLAGE DES PARALOGUES DE RAD51 CHEZ 144 PATIENTES A HAUT RISQUE DE PREDISPOSITION GENETIQUE AUX CANCERS SEIN/OVAIRE, SANS MUTATION BRCA1/2 IDENTIFIEE.

G DAVY (1), E AL AGEELI (1), V CAUX-MONCOUTIER (1), C TIRAPO (1), D MICHAUX (1), L CASTERA (1), MH STERN (2), C HOUDAYER (3), D STOPPA-LYONNET (4)

1. Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France
2. Unité INSERM U830, Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France
3. Service de Génétique Oncologique, Institut Curie / Université Paris Descartes, Paris, France
4. Service de Génétique Oncologique, Unité INSERM U830, Institut Curie / Université Paris Descartes, Paris, France

Environ 5% des cas de cancers du sein et 10% des cas de cancers de l'ovaire sont liés à un facteur de prédisposition génétique transmis selon le mode dominant. La présence de mutations germinales inactivatrices des gènes BRCA1 et BRCA2 explique une majorité des cancers héréditaires du sein et/ou des ovaires. Cependant certaines histoires familiales de cancer du sein statistiquement évocatrices d'un risque majeur de prédisposition ne sont pas expliquées par la ségrégation d'une mutation d'un de ces deux gènes. Une grande hétérogénéité génétique est actuellement avérée. Les gènes partenaires de BRCA1 et 2 impliqués dans la réparation des cassures double brins de l'ADN par recombinaison homologue sont de bons candidats. Parmi eux, les paralogues de RAD51 ont fait l'objet de plusieurs publications récentes dans ce domaine. Cinq paralogues de ce gène sont décrits: RAD51B (ou L1), RAD51C (ou L2), RAD51D (ou L3), XRCC2 et XRCC3.

Nous avons entrepris le criblage de mutations sur ces 5 gènes chez 144 patientes à haut risque de prédisposition génétique aux cancers sein et/ou ovaire, sans mutation délétère de BRCA1 ou 2 identifiée. Un criblage par la technique EMMA (Enhanced Mismatch Mutation Analysis), basée sur la migration électrophorétique différentielle d'hétéroduplexes en conditions non dénaturantes, a été mis au point, avec amplification en conditions semi-quantitatives par PCR multiplexe des régions d'intérêt. Un amplicon contrôle présent dans les multiplexes permet la normalisation des signaux et la détection des réarrangements de grande taille. L'analyse de RAD51C comporte 9 amplicons rassemblés en 3 multiplexes. L'analyse des 4 autres paralogues a été simultanée et comporte 36 amplicons répartis en 11 multiplexes.

A ce jour, l'ensemble des patientes a été criblé sur RAD51C. Dix variants différents (hors polymorphismes) trouvés chez 11 patientes ont été séquencés. Une mutation retenue comme causale puisque inactivant le site accepteur de l'intron 4, c.706-2A>G a été identifiée, ainsi qu'un variant de signification inconnue, c.1026+5_1026+7delGTA. Les prédictions in silico de ce dernier sont en faveur d'une abolition du site donneur de l'intron 8. Une étude des transcrits de RAD51C est prévue afin de confirmer le caractère causal de cette variation. Aucun réarrangement de grande taille du gène RAD51C n'a été identifié. Le criblage des 4 autres paralogues de RAD51 a été effectué, à l'heure actuelle, sur 6 multiplexes. Huit variants uniques ont été détectés : 2 sur RAD51B, 1 sur RAD51D, 2 sur XRCC2, 3 sur XRCC3. La suite du criblage et le séquençage des variants sont en cours.

La présence de mutations inactivatrices sur les gènes partenaires de BRCA confirme l'hétérogénéité génétique dans l'étiologie des cancers héréditaires du sein et de l'ovaire. Dans un avenir proche, le séquençage d'exomes entiers permettra de mieux explorer cette complexité et ainsi de mieux définir les risques de cancer associés.

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P414 - FUSION OF BCR (22Q11.2) AND FIBROBLAST GROWTH FACTOR RECEPTOR-I (FGFR1) (8P11) GENES IN CHRONIC MYELOID LEUKAEMIA IN A WOMAN CARRYING DI GEORGE SYNDROME (22Q11.2 DELETION ON UNTRANSLOCATED CHROMOSOME 22)

S Chantepie (1), M Decamp (2), N Gruchy (2), M Leporrier (1), N Leporrier (2), H Mittre (3), G Plessis (3), B Volard (2)
1. Service d'hématologie, CHU Côte de Nacre, Caen, France
2. Génétique, CHU Côte de Nacre, Caen, France
3. Génétique, CHR Clémenceau, Caen, France

The 8p11 myeloproliferative syndrome (EMS), also called stem-cell leukemia-lymphoma syndrome (SCLL) is a rare condition characterized by a BCR/ABL negative myeloproliferative disease and a lymphoma, often precursor-T lymphoblastic lymphoma (T-LBL). Similar to chronic myelogenous leukaemia, the myeloproliferative aspect transforms to a myeloblastic phase after a chronic phase. A characteristic chromosomal translocation is always associated with this syndrome : it involves the fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) at chromosome 8p11. Ten different partners have been described in association with FGFR1 responsible for this disorder. Except for ZNF198 and BCR, each of them have been reported only few times. They all emphasize FGFR1 tyrosine kinase activity that leads to tumorigenesis. BCR gene has been reported 3 times as a partner in such haematologic malignancies (Demiroglu 2001; Fioretos 2001).
22q11.2 deletion responsible for Di George syndrome is classically associated with low thymic activity and possible immunodeficiency.
We report here the case of a woman carrying unexpectedly a Di George syndrome who develops an EMS involving a FGFR1-BCR fusion gene. Di George syndrome diagnosis was fortuitous as it occurred at the time of molecular characterization of the translocation. Afterwards, patient's phenotype revealed minor signs observed in Di George syndrome such as blepharophimosis, hypotelorism, nasal speech, and systolic heart murmur. Patients exhibiting Di George syndrome do not have a propency to malignancy and occurrence of a myeloproliferative disorder is not a recurrent condition. We discuss whether there could be a link between these two conditions.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P415 - EVALUATION DE LA MORBIDITE DES POLYPOSES DIGESTIVES RARES DANS LE CADRE D'UNE BASE DE DONNEES MULTICENTRIQUE FRANÇAISE

P Badol Van Straaten (1), I Coupier (2), J Duffour (3), C Abadie (4), F Zerbib (5), JC Saurin (1)

1. Gastro enterologie, HCL, lyon, France
2. Unité d'oncogénétique, CRLCC Val d'Aurelle, CHU Arnaud de villeneuve, montpellier, France
3. Oncogenetique, CRLCC Val D 'Aurelle, Montpellier, France
4. Oncogenetique, CRLCC Val D' Aurelle, Montpellier, France
5. Gastro enterologie, CHU, Bordeaux, France

Introduction

Une base de données clinique multicentrique sur les polyposes digestives rares a été développée dans le cadre d'un appel à projet INCA, avec pour objectif de connaître l'épidémiologie en pratique réelle de ces pathologies complexes. Cette étude correspond à l'analyse de la morbidité endoscopique et post opératoire des 102 premiers patients inclus en 2010-2011 dans 3 centres participants (Bordeaux, Lyon, Montpellier).

Patients et Méthodes

La base de données concerne de façon non sélectionnée les patients consécutifs présentant une polypose adénomateuse familiale (PAF), de Peutz-Jeghers (PJ), Juvénile (J), ou de Cowden (C). Ce travail correspond à l'analyse d'une fiche de recueil déclarative de plusieurs critères de morbidité pré-définis incluant les complications endoscopiques, tumorale, chirurgicales et médicamenteuses liées à la pathologie et à sa prise en charge. La répartition des polyposes était : polypose adénomateuse familiale 83,3% (85/102, 74 APC, 4 MutYH, 7 indéterminées), Peutz-Jeghers 11,8% (12/102), 1 Cowden et 1 polypose juvénile.

Résultats

Une complication d'un geste endoscopique était rapportée par 23,5% (24/102) patients. Trente complications étaient notées chez 23 patients PAF (dont 19 hémorragies retardées, 3 perforations), 2 complications chez 2 patients PJ (1 hémorragie, 1 perforation). Une colectomie avait été réalisée chez 78 patients (75 PAF, 1 PJ, 2 J). Une complication postopératoire en lien avec la colectomie était rapportée chez 29 patients (37,1 %, dont 7 après AIA, 14 après AIR). Une chirurgie à distance (> 30 jours) de la colectomie était rapportée chez 36 patients (35,2 %) pour une néoplasie en rapport avec la polypose (45 chirurgies), chez 21 patients (20,5 %) liée à une complication de la chirurgie initiale (24 chirurgies). L'interrogatoire concernant le résultat fonctionnel de la chirurgie était réalisé chez 66 patients (PAF 63, PJ 1, Polypose juvénile 2), après exclusion de 12 patients ayant une stomie définitive, 10 sans précision sur l'anastomose, 14 non colectomisés. Parmi les 66 patients, un nombre de selles élevé (> 6 /jr) était noté chez 41,7% (10/24) des patients avec anastomose iléo-anale versus 17,5% (7/40) des patients avec anastomose iléo-rectale ($p< 0,001$), et une incontinence fécale nocturne ou diurne chez 50,0% (12/24) et 7,5% (3/40) des patients respectivement ($p< 0,001$). Enfin une tumeur desmoide était rapportée chez 9 patients PAF (10,5 %).

Conclusion

Les données d'un interrogatoire systématique prospectif des patients montrent la lourdeur de la prise en charge nécessaire en contexte de polypose digestive rare, tant au niveau endoscopique que chirurgical. Ces données montrent un meilleur confort de l'anastomose iléo-rectale comparée à une anastomose iléo-anale.

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P416 - MUTATIONS HEREDITAIRES DE BRCA IDENTIFIEES PAR SEQUENÇAGE HAUT DEBIT DANS UN PANEL DE 22 GENES AVEC MULTIPLEXAGE EN AMONT DE LA CAPTURE

JJ Baumann (1), A Hardouin (1), S Krieger (1), A Legros (1), O Letac (2), A Rousselin (3), B Sponem (4), D Vaur (1)
1. Laboratoire de Biologie Clinique et Oncologique, Centre F. Baclesse, Caen, France
2.) Laboratoire de Biologie Clinique et Oncologique, Centre F. Baclesse, Caen, France
3.) Laboratoire de Biologie Clinique et Oncologique, centre F. Baclesse, Caen, France
4. Service informatique, Centre F. Baclesse, Caen, France

De nombreux gènes sont impliqués dans la prédisposition héréditaire aux cancers du sein et de l'ovaire et peuvent être étudiés simultanément par séquençage à haut débit. Un écueil majeur pour intégrer cette technologie dans les laboratoires de génétique moléculaire reste son coût excessif. Afin de le diminuer, les protocoles actuellement disponibles nécessitent d'être adaptés. Nous avons mis au point une technique de séquençage haut débit de 22 gènes d'intérêt précédemment décrits (T. Walsh et al., PNAS, 2010), sur un séquenceur Genome Analyzer IIx (Illumina) d'échantillons multiplexés par 12. Nous avons validé cette stratégie sur un panel de 60 mutations connues dans les gènes BRCA1 et BRCA2.
L'ADN de patients porteurs de mutations délétères du type substitution, délétion ou insertion de taille variable, délétion et duplication de grande taille (RGT) dans les gènes BRCA1 et BRCA2, a été extrait avec un robot EZ1 (Qiagen). Pour la préparation des librairies, des fragments d'ADN de 200 pb ont été générés par sonication (Covaris) puis liés à l'un des 12 adaptateurs indexés. Les étapes de purification et ligation ont été réalisées sur un robot SPRIworks (Beckman Coulter Genomics). La capture des régions d'intérêt a été réalisée, à l'aide d'un set SureSelect (Agilent) spécifique des 22 gènes d'intérêt (10 kb en amont et aval de chaque gène) soit 1 Mb excluant les séquences répétées. Dans un premier temps, afin d'évaluer la faisabilité de notre stratégie de multiplexage, 12 ADN témoins ont été multiplexés soit avant soit après capture, par pools de 6 ou 12 échantillons. Le séquençage a été réalisé selon un protocole paired-end (2x76pb) sur GAIIx (Illumina). L'analyse bioinformatique a été réalisée sur la suite logicielle Illumina CASAVA 1.8 et le logiciel NextGENe (SoftGenetics). Les RGT ont été mis en évidence à l'aide de la méthode CNVseq (C. Xiel et al., BMC, 2009). Le premier set de validation comprenant 12 mutations, nous a permis d'observer que le multiplexage avant capture n'affecte pas les résultats du séquençage. La couverture moyenne de lecture des bases ciblées est de 129 reads/pb par 6 et de 60 reads/pb par 12 respectivement. Nous avons mis en évidence les 12 mutations recherchées dont 3 RGT, une insertion de 39 bases et une délétion de 40 bases. L'analyse des 48 échantillons suivant multiplexés est en cours. Le coût moyen des réactifs pour l'analyse des 22 gènes d'un échantillon devient comparable au coût généré par les techniques actuelles pour l'analyse de 2 gènes.

Cette étude met en évidence la faisabilité de l'analyse d'un panel de 22 gènes impliqués dans la prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire par séquençage haut débit, avec un protocole de multiplexage avant capture de 12 échantillons. Dans un contexte d'élargissement des indications des tests en oncogénétique, cette approche devrait permettre de réduire les coûts d'analyses et les délais de rendu des résultats tout en augmentant le nombre de gènes étudiés.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P417 - RETOUR D'EXPERIENCE SUR LA QPCR-HRM EN ONCOGENETIQUE : DE LA MISE AU POINT A LA DECOUVERTE DE NOUVEAUX VARIANTS

C Lefol (1), F Copigny (2), C Guy (2), C Derouet (2), L Gourdain (2), I Bieche (2), S Caputo (2), R Lidereau (2), E Rouleau (2)

1. Laboratoire d'oncogénétique, Institut Curie, Saint Cloud, France
2. Laboratoire d'Oncogénétique, Institut Curie, Saint Cloud, France

Nous souhaitons ici faire le point de l'utilisation de qPCR-HRM sur plusieurs gènes impliqués dans la prédisposition au cancer BRCA1, BRCA2, MSH2,EPCAM, MLH1, MSH6, MET, MUTYH, et CDH1. Le principe général est l'amplification de la totalité de ces gènes avec des amorces choisies pour permettre un dosage génique. Chaque amplicon est étudié en triplicat.

En tout, plus de 600 patients ont été analysés sur ces différents gènes. 99 mutations délétères ont été identifiées et 129 variants de signification inconnue (VSI). La mesure quantitative permet de détecter la présence de mutations dans les amorces, détectées dans 18 cas sur 427, soit 3.5% des patients. Il s'agit de 10 VSI différents et 3 délétères dont une délétion de 104-pb dans l'exon 11. Ces variants n'étaient pas détectables en séquençage direct. De plus, dans le gène BRCA1, de nombreux polymorphismes homozygotes ont pu être détectés ce qui n'est pas le cas du gène MUTYH. Nous avons pu montrer que 4/9 variants homozygotes n'étaient pas détectés malgré le triplicat ce qui nous a amené à mettre en place une approche comprenant un mélange d'ADN (ADN Promega) pour le criblage de MUTYH. Au total, 10 grands réarrangements ont été identifiés sur ces gènes dont des réarrangements rares sur les gènes CDH1 et MUTYH. Sur le gène MUTYH, il a ainsi été détecté une délétion des exons 4 à 16 sur le gène MUTYH associée avec une mutation c.1145G>A, perçu comme faussement homozygote en séquençage. Le nombre de faux positifs a été de 8% pour les grands réarrangements associés en général à des ratios limites (0.75).

Nous avons révélé deux cas limites en HRM sur les variants BRCA1 c.6405_6408del, p.Asn2135LysfsX32 et sur MSH6 (c.2253T>C, p.=). Le variant de MSH6 a été détecté sur l'amplicon chevauchant. Le variant de BRCA1 a été détecté sur un test génétique. Ces cas montre la nécessité de poursuivre la validation de ces méthodes en fonction des anomalies identifiées. Nous validons en continu nos contrôles positifs par l'approche HRM.

Enfin, cette approche fournit des données quantitatives sur les performances des amorces utilisées permettant de valider la qualité des résultats. Les Cp sont suivis pour détecter la dégradation des amorces et ont globalement sur BRCA1/ BRCA2 un écart-type moyen de 0.08. Le Tm de la courbe de fusion permet de valider la nature des amplicons étudiés avec une excellente robustesse et des écart-types de 0.03.

Au final, cette approche permet de cribler de manière satisfaisante les variations génétiques en limitant les faux négatifs dus à la présence d'une mauvaise amplification ou des variations rares comme des réarrangements de moyenne taille ou des insertions de séquences Alu. La prochaine évolution de cette approche sera certainement l'automatisation informatique des analyses.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P418 - CONTRIBUTION DES MUTATIONS DU GENE PALB2 DANS LES FORMES FAMILIALES DE CANCER DU SEIN : ANALYSE DE 700 CAS ET 700 TEMOINS DE L'ETUDE GENESIS.

D MULLER (1), I SCHULTZ (1), C MAUGARD (2), S EON-MARCHAIS (3), M MARCOU (3), L TOULEMONDE (3), MG DONDON (3), J BEAUVALLET (3), E CAVACIUTI (4), L BARJHOUX (5), C VERNY-PIERRE (6), O SININILKOVA (7), D STOPPA-LYONNET (8), N ANDRIEU (3), J ABECASSIS (9)

1. Laboratoire d'oncogénétique, Centre de lutte contre le cancer Paul Strauss, STRASBOURG, France
2. Laboratoire de diagnostic génétique, Hôpitaux universitaires, STRASBOURG, France
3. Inserm U900, Mines ParisTech, Institut Curie, PARIS, France
4. Inserm 900, Mines ParisTech, Institut Curie, PARIS, France
5. Inserm U1052, CNRS UMR5286, Université Lyon 1, Centre de recherche en cancérologie de Lyon, LYON, France
6. Inserm U1052, CNRS UMR5286, Université Lyon 1, Centre de recherche en cancérologie de Lyon, LYON, France
7. Inserm U1052, CNRS UMR5286, Université Lyon 1, Centre de recherche en cancérologie de Lyon, Unité mixte de génétique constitutionnelle des cancers fréquents, Centre L. Bérard, LYON, France
8. Service de génétique, Institut Curie, PARIS, France
9. Laboratoire de BiologieTumorale-Oncogénétique, Centre de lutte contre le cancer Paul Strauss, STRASBOURG, France

Les mutations constitutionnelles monoalléliques et inactivatrices des gènes BRCA1 et BRCA2 sont associées à un risque élevé de développer un cancer du sein ou de l'ovaire. Cependant, ces mutations contribuent seulement pour environ 20% des familles présentant un syndrome de cancer du sein et/ou de l'ovaire. Plus de 80% des cas restent donc inexpliqués. De nouveaux gènes de prédisposition, tels que ATM, CHEK2, BRIP1 et PALB2, impliqués dans des voies de réparation de l'ADN et/ ou de contrôle du cycle cellulaire communes à celles de BRCA1/2, ont été identifiés. La fréquence de leurs mutations et les risques tumoraux associés restent à caractériser.

La recherche de mutations germinales dans le gène PALB2 est effectuée chez les cas et les témoins de l'étude française GENESIS, étude reposant sur la contribution de paires de sœurs atteintes de cancer du sein et non porteuses d'une mutation BRCA1/2 et une population témoin composée des sœurs indemnes et de femmes non apparentées. L'étude portera sur 694 cas et 691 témoins.

Le criblage du gène PALB2 est effectué en utilisant la méthode EMMA. Cette méthode simple et peu coûteuse, mise au point et validée au laboratoire, permet une analyse exhaustive, à haut débit, des 13 exons codants du gène. La fréquence des mutations inactivatrices, car introduisant un codon stop prématuré, et des variants sera examinée parmi les cas et les témoins. Une seule sœur atteinte sera testée en première intention. La présence d'une mutation identifiée chez les autres sœurs atteintes de la famille sera recherchée.

Les résultats préliminaires font état de 2 mutations inactivatrices détectées parmi 360 cas. Nous rapporterons les résultats obtenus pour l'ensemble des 1400 échantillons.

Cette étude devra permettre de caractériser la contribution du gène PALB2 dans les prédispositions aux cancers du sein et de l'ovaire.

Mots clés : PALB2, cancer du sein, gène de prédisposition

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P419 - ETUDES GENOMIQUE ET TRANSCRIPTOMIQUE DE TUMEURS DU SEIN LIEES A UNE MUTATION GERMINALE DE BRCA2

A Rouault (1), G Banneau (2), M Guedj (3), G Mac Grogan (4), N Jones (1), E Nabila (3), E Barouk-Simonet (5), V Bubien (1), E Le Touzé (6), A de Reyniès (3), F Bonnet (1), R Iggo (7), M Longy (8), N Sevenet (1)
1. Unité d'oncogénétique & INSERM U916, Institut Bergonié & Univ. Bordeaux, Bordeaux, France
2. Plateforme d'extraction et de qualification des acides nucléiques-Cartes d'Identité des Tumeurs (CIT) program, Ligue Nationale Contre Le Cancer, Paris, France
3. Cartes d'Identité des Tumeurs (CIT) program, Ligue Nationale Contre le Cancer, Paris, France
4. Département de Pathologie, Institut Bergonié, Bordeaux, France
5. Unité d'oncogénétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France
6. Programme Cartes d'Identité des Tumeurs (CIT), Ligue Nationale Contre le Cancer, Paris, France
7. INSERM U916, Institut Bergonié, Univ.Bordeaux, Bordeaux, France
8. Unité d'oncogénétique & INSERM U916, Institut Bergonié & Univ.Bordeaux, Bordeaux, France

Rationnel : Une altération délétère d'un des deux gènes majeurs de prédisposition BRCA1 et BRCA2, est détectée dans seulement 20 à 30% des formes familiales de cancer du sein. L'indication d'une recherche de mutation dans BRCA2 repose essentiellement sur des critères généalogiques mais la fréquence de mise en évidence d'une mutation dans ces indications reste modeste1. L'objectif du projet est de caractériser des profils génomiques et transcriptomiques spécifiques des tumeurs BRCA2, permettant la documentation de remaniements génomiques prédictifs de mutation BRCA2, ayant un intérêt diagnostic évident et la perspective de l'utilisation de thérapies ciblées.

Matériel et méthodes : Une série de tumeurs familiales du sein a été constituée, formée de deux populations distinctes : des tumeurs mutées pour BRCA2 et des tumeurs non mutées pour BRCA1/BRCA2 appelées BRCAX, servant de groupe-contrôle. Des études de CGH-array, puces SNPs, analyse du transcriptome et séquençage de nouvelle génération (Illumina) ont été menées.

Résultats : Les études par CGH-Array et puces SNPs ont permis de caractériser dans les tumeurs l'existence de 2 remaniements cytogénétiques régulièrement associés aux mutations germinales BRCA2, sous forme de délétion des bras longs des chromosomes 13 et 14. Une région minimale de délétion a été déterminée sur les 2 chromosomes. La réalisation d'analyses supervisées sur les données de transcriptome entre les tumeurs BRCA2 et les tumeurs familiales BRCAX, a permis de caractériser une signature spécifique des tumeurs BRCA2. Les gènes sous-exprimés, localisés sur les bras longs des chromosomes 13 et 14, sont fortement représentés dans la signature transcriptomique. Les exomes des chromosomes 13 & 14 pour 5 tumeurs informatives et leur ADN constitutionnel ont alors été séquencés.

Analyse des résultats et perspectives : la spécificité des pertes de matériel chromosomique dans les tumeurs BRCA2, confirmée dans plusieurs études indépendantes2-3, autorise 2 perspectives : (i) un intérêt diagnostique à l'utilisation de ces pertes cytogénétiques précises dans la caractérisation des tumeurs liées à BRCA2 (test FISH) ; (ii) la sélection de ces pertes de matériel chromosomique en cas de mutation germinale BRCA2 suggèrerait la présence d'un facteur génétique susceptible de s'opposer à la cancérisation mammaire liée à BRCA2.

Références
1- Moller et al., Genetic epidemiology of BRCA mutations – family history detects less than 50% of the mutation carriers Eur J Cancer. 2007; 43, 1713-1717.
2- Stefansson et al., Genomic profiling of breast tumours in relation to BRCA abnormalities and phenotypes. Breast Cancer Res. 2009 ; 11 (4):R47.

3- Jonsson et al., Genomic subtypes of breast cancer identified by arraycomparative genomic hybridization display distinct molecular and clinical characteristics. Breast Cancer Res. 2010 ; 12:R42.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P420 - NOUVEAU PARTENAIRE DE RUNX1 DANS UN CAS D'ACUTISATION DE LEUCEMIE MYELOMONOCYTAIRE CHRONIQUE

S Toujani (1), F Delhommeau (1), M Chaquin (1), O Legrand (2), L Douay (1), F Viguié (3)

1. (1) Service d'Immunohématologie biologique, CHU Saint Antoine, Paris, France
2. (2) Service d'hématologie clinique, CHU Saint Antoine, Paris, France
3. (1) Service d'Immunohématologie biologique,(3) Université Paris V- René Descartes, CHU Saint Antoine, Paris, France

La leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC) est une entité biologiquement hétérogène. Elle peut présenter des caractéristiques soit myéloprolifératives soit myélodysplasiques. Les anomalies du gène RUNX1/AML1 surviennent dans les 2 sous-groupes de LMMC. Les translocations chromosomiques ou les mutations de la région codante de RUNX1, notamment dans le domaine Runt homology (RHD ; exons 3-5) altèrent la fonction du gène. Nous rapportons l'observation d'une transformation d'une LMMC chez une patiente de 74 ans, présentant secondairement une translocation t(8;21)(q12;q22) impliquant le gène RUNX1 et un nouveau partenaire probable sur le chromosome 8. La patiente est suivi pour SMD traité par de l'érythropoïétine. Le diagnostic de LMMC est porté en Avril 2008. L'hémogramme montre une hyperleucocytose (GB=15G/L) constituée de 46% de monocytes et 1% de blastes et une anémie (Hb=8.4g/dl). Le myélogramme montre au sein d'une moelle riche la présence d'un excès de monocytes dystrophiques avec 5 à 6% de blastes. Le caryotype médullaire révèle la présence isolée de la translocation t(1;3)(p36;q21) dans les 20 métaphases analysées. Au terme de 3 ans de traitement par 5-azacytidine (28 cures), l'hémogramme révèle une leucopénie (GB=0.7G /L) avec une monocytose à 24%, une anémie (Hb=7.4g/dl) et une thrombopénie (plaquettes=3G /L). Le myélogramme montre une acutisation de la LMMC avec présence de 26% de blastes dans une moelle riche comportant une lignée monocytaire-macrophage prédominante. Le caryotype médullaire montre la présence de la t(1;3) dans les 23 métaphases dont 10 montrent une translocation t(8;21)(q12;q22) additionnelle. L'étude par FISH avec la sonde AML1-ETO (Vysis) montre la scission du signal de RUNX1 entre les dérivés der(8) et der(21) de la t(8;21).
Les mutations ponctuelles du gène RUNX1 sont détectées dans 37% des cas de LMMC. Certaines anomalies chromosomiques de RUNX1 peuvent être cryptiques. En effet, 2 cas d'inversions inv(21)(q21q22) sont rapportées dans la LMMC. RUNX1 est souvent par ailleurs impliqué dans des translocations. On dénombre plus de 30 partenaires dont certains ne sont pas caractérisés. Nous rapportons un nouveau partenaire probable de RUNX1 localisé en 8q12. Cette bande chromosomique comprend des gènes candidats dont Lyn, RAB2A et PLAG1. Ce dernier gène est impliqué dans des translocations associées à l'adénome pléomorphe et surexprimé dans la leucémie lymphoïde chronique. Une hybridation in situ avec des sondes BACs est en cours pour déterminer le gène partenaire de RUNX1.

Mots clés : LMMC, translocation chromosomique, gène RUNX1, FISH

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P421 - ESTIMATION DU RISQUE PAR LOCALISATION TUMORALE CHEZ LES PORTEURS D'UNE ALTERATION DU GENE TP53 DANS LE SYNDROME DE LI-FRAUMENI

G Bougeard (1), V Bonadona (2), B Bonaïti (3), T Frebourg (4), C Bonaïti-Pellié (5)

1. Inserm U614, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie, Rouen, France
2. UMR CNRS 5558 et Unité clinique d'oncologie génétique, Université Lyon 1 et Centre Léon Bérard, Lyon, France
3. INRA-GABI et Inserm U669, INRA et Hôpital Paul Brousse, Jouy-en-Josas et Villejuif, France
4. Inserm U614 et Département de Génétique, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie et CHU, Rouen, France
5. Inserm U669 et Université Paris-Sud, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

Le syndrome de Li-Fraumeni (LFS) est une forme rare de prédisposition héréditaire au cancer touchant l'enfant et l'adulte jeune, remarquable par le large spectre de tumeurs associées (sarcomes des tissus mous, ostéosarcomes, tumeurs cérébrales, corticosurrénalomes, cancers du sein préménopausiques, leucémies, cancers du poumon bronchoalvéolaires...). Le LFS résulte de l'altération constitutionnelle hétérozygote du gène suppresseur de tumeur TP53. L'incidence de ce syndrome rare est difficile à estimer car sa définition pose un problème de classification nosologique. Des critères élargis ont été adoptés en 2001 par le groupe français d'étude sur le LFS, puis affinés en 2009 (Tinat J et al J Clin Oncol 2009), ont à ce jour permis de caractériser une altération de TP53 chez 162 familles françaises et ont été validés au niveau international. L'estimation du risque de développer une tumeur chez les porteurs d'une mutation de TP53 est rendue difficile par la définition familiale du syndrome. En 2000, une étude française a permis d'estimer les risques cumulés de développer un cancer selon l'âge et le sexe, quelle que soit la localisation tumorale; ces risques cumulés sur toute la vie sont de 73 % chez les hommes et de pratiquement 100 % chez les femmes (Chompret A et al Br J Cancer 2000). Aucune autre étude n'a néanmoins permis dévaluer un risque par localisation tumorale et cette donnée est essentielle pour l'élaboration d'un protocole de dépistage tumoral chez les porteurs d'une mutation de TP53. La gravité du LFS se traduit par une évolution très rapide des arbres généalogiques ; les bases de données disponibles au niveau international ne tiennent pas compte de cette évolution et fournissent uniquement des données restreintes à un arrêt sur image au moment du diagnostic. L'objectif de notre étude était donc d'actualiser entre 2008 et 2011 l'ensemble des données dans les familles françaises avec mutation de TP53 identifiée. Toutes les données collectées sont en cours d'analyse afin d'estimer les risques des différentes localisations tumorales grâce à une méthode statistique originale tenant compte de l'incidence des différents types de tumeurs en population générale. Cette méthode (genotype-restricted likelihood, GRL) est basée sur le maximum de vraisemblance et le principe des analyses de survie et a bénéficié d'une récente amélioration (Bonaïti B et al Eur J Hum Genet 2011). L'analyse des données issues de cette étude nationale permettra d'affiner le spectre tumoral associé aux mutations de TP53, d'analyser l'impact du type de mutation et des polymorphismes de la voie p53 sur l'âge d'apparition de la première tumeur et surtout d'estimer un risque pour les différentes localisations tumorales. Les résultats seront présentés lors des sixièmes assises de génétique humaine et médicale.

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P422 - DOG, A SPONTANEOUS MODEL FOR HUMAN CANCERS: EXAMPLES OF HISTIOCYTIC SARCOMA AND MELANOMA

LE CHIEN, UN MODELE SPONTANE DE CANCERS CHEZ L'HOMME: EXEMPLES DU SARCOME HISTIOCYTAIRE ET DES MELANOMES.

B Hedan (1), E Cadieu (1), M Gillard (1), C De Brito (2), J Abadie (3), AS Guillory (1), B Vergier (4), P Devauchelle (5), L Lagoutte (1), J Donadieu (6), F Galibert (1), C André (1)
1. CNRS, UMR 6061, Institut de Génétique et Développement de Rennes, Rennes, France., Université Rennes 1, UEB, IFR140, Faculté de Médecine, Rennes, France., Rennes, France
2. CNRS, UMR 6061, Institut de Génétique et Développement de Rennes, Rennes, France. 2 Université Rennes 1, UEB, IFR140, Faculté de Médecine, Université Rennes 1, UEB, IFR140, Faculté de Médecine, Rennes, France., Rennes, France
3. Laboratoire d'Histopathologie Animale, ONIRIS, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, Nantes, France
4. Service de Pathologie, Hôpital du Haut-Lévêque, Pessac, France
5. Centre de Cancérologie Vétérinaire, ENVA, Maisons Alfort, France
6. Service Hemato-Immuno-Oncologie, Hopital Armand Trousseau, Paris, France

Dogs spontaneously develop many cancer types presenting the advantage to be (i) homologous to human cancers, (ii) dog breed specific, (iii) frequent in the predisposed breeds. These features allow the predisposing genes to be tracked in these genetic isolates more easily than in humans. Faced to limitations in the use of classical rodent cancer models, closer models to humans, and thus more appropriate in the translation to human and in the production of efficient therapies, are strongly needed. The Dog who offers a physiopathology closer to humans, gives the opportunity to decipher the different steps of tumorigenesis from genetic predispositions to acquired abnormalities and to investigate new therapies.
We will illustrate the power of this original model with the study of two different dogs breed specific cancers: canine histiocytic sarcomas (HS) and melanoma. These tumours present striking breed specificities: HS mainly affects Bernese Mountain dogs (up to 25%), while melanoma affect different other breeds (up to 5 %), with an anatomic site specificity.
Regarding HS, thanks to collection of over 1000 blood samples, we proposed an oligogenic transmission mode for this cancer (Abadie, Hédan et al., 2009) and performed a genome wide association study (GWAS) which allowed us to identify 2 major loci involved in HS predisposition. These loci are under investigation. In one of them, a predisposing haplotype was shown to be associated with a decreased expression of a candidate gene and a shorter life span in dogs. To get a complete view of pathways involved in tumorigenesis, CGH and RNA sequencing analyses were started to identify tumour progression alterations. The CGH study of 100 HS tumors already highlighted recurrent aberrations and the major role of different regions, among which CDKN2a and PTEN (Hedan et al 2011).
Concerning melanoma, the same strategy has been followed; a collection of >300 blood samples and >150 melanoma tissues was performed. The first step was to characterize the epidemiological, histological and clinical features of canine melanoma to point out homologies between human and dog melanoma: we showed that poodles are at high risk to develop oral melanoma, while schnauzers, rotweillers or Beauce shepherds are most often affected by cutaneous melanoma. The comparative analysis of 147 melanoma cases showed strong homologies with human intradermal, non-UV dependent melanoma (Gillard et al. in prep). The second step consisted in a GWAS, performed on 400 dogs and a somatic alteration analysis. First results showing similar pathways with human, will be presented.
All together, these genetic analyses in dogs are thought to identify common and/or novel genes and pathways in human HS, a rare but unknown and highly aggressive tumor, and in human melanoma, a major health concern. The final goal is to gain a better understanding of the physiopathology and genetics of these tumours, to anticipate clinical trials on dogs.

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P423 - RECHERCHE DE DELETION EMPORTANT PHOX2B CHEZ 13 PATIENTS SANS MUTATION DE CE GENE ET PRESENTANT UNE HYPOVENTILATION CENTRALE, UNE MALADIE DE HIRSCHSPRUNG ET UN NEUROBLASTOME SELON DIFFERENTES COMBINAISONS

M OUFADEM (1), L DE PONTUAL (2), H TRANG (3), A MUNNICH (1), S LYONNET (1), J AMIEL (1)
1. Université Paris-Descartes, INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
2. Services de Pédiatrie, Université Paris XIII, Hôpital Jean Verdier, BONDY, France
3. Centre de référence maladie rare pour le syndrôme d'Ondine, Hôpital Robert Debré, PARIS, France

Le syndrome d'Ondine, également appelé Hypoventilation Alvéolaire Centrale Congénitale (CCHS) est une maladie rare (1/200 000 naissances) caractérisée par une anomalie sévère du contrôle autonome de la ventilation le plus souvent dès la période néonatale.
Cette Hypoventilation peut être isolée mais prédispose à d'autres anomalies du Système Nerveux Autonome comme la Maladie de Hirschsprung (HSCR) dans 20% des cas et/ou des Tumeurs du Système Nerveux Sympathique (TSNS) comme les NeuroBlastomes (NB) dans 5 à 10% des cas.

Il s'agit d'une maladie génétique de transmission autosomique dominante et le gène majeur est PHOX2B (Paired-like Homeobox 2B) qui code un facteur de transcription comportant un homéodomaine crucial pour le développement du système nerveux autonome.
Dans notre cohorte, 95% des patients présentant une Hypoventilation Alvéolaire Centrale Congénitale portent une mutation hétérozygote de ce gène.

En 2003, une délétion de 5Mb en 4p12 emportant le gène PHOX2B a été rapportée (Benailly et al.) chez une patiente présentant une maladie de Hirschsprung syndromique associée à un retard mental mais sans phénotype respiratoire.
Plus récemment, l'équipe de Lawrence J. Jennings a identifié des délétions emportant PHOX2B chez 3/250 patients présentant des phénotypes variables d'Hypoventilation associée ou non à une HSCR ou une TSNS.

Nous avons donc sélectionné 13 patients présentant un ou plusieurs signes de dysautonomie et sans mutation de PHOX2B (ou ALK pour les patients présentant un NeuroBlastome). Parmi eux, 7 présentent une Hypoventilation isolée, 4 ont une TSNS, 1 a un GanglioNeuroBlastome associé à une Hypoventilation. Le dernier patient présente un GanglioNeuroBlastome associé à une maladie de Hirschsprung.
Nous avons utilisé la technique de Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) pour rechercher une délétion au locus PHOX2B avec comme témoin de délétion la patiente rapportée par Benailly et al.

Par cette technique robuste, nous n'avons pas mis en évidence de variation du nombre de copies du gène PHOX2B.

Nous pouvons donc conclure que les délétions du gène PHOX2B chez les patients présentant une Hypoventilation associée ou non à une HSCR et/ou une TSNS sont rares. Ceci est en accord avec le mécanisme probable de gain de fonction des mutations de PHOX2B. Cependant, les délétions de PHOX2B rapportées dans la littérature suggèrent que l'haploinsuffisance de ce gène peut être responsable du syndrôme d'Ondine isolé ou d'une dysautonomie plus étendue dans de rares cas.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P424 - SYNDROME DE GORLIN ET MUTATIONS CONSTITUTIONNELLES DU GENE PTCH1 : NOUVELLES MODALITES DE CRIBLAGE, MISE EN ŒUVRE D'UNE BASE UMD DES MUTATIONS DE PTCH1

D Lafon (1), A Réméniéras (2), F Bonnet (3), B Gastaldello (1), N Jones (3), E Barouk-Simonet (4), V Bubien (3), L Brugières (5), B Bressac de Paillerets (2), R Toftgard (6), C Béroud (7), M Longy (3), N Sevenet (3)

1. Unité d'Oncogénétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France
2. Service de Génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
3. INSERM U916 & Unité d'Oncogénétique, Univ. Bordeaux & Institut Bergonié, Bordeaux, France
4. INSERM U916 & Unité d'Ocogénétique, Univ. Bordeaux & Institut Bergonié, Bordeaux, France
5. Département de Cancérologie de l'Enfant et l'Adolescent, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
6. Department of Biosciences and Nutrition, Karolinska Institutet, Huddinge, Suède
7. INSERM U827, IURC, Montpellier, France

Introduction et objectif : Deux laboratoires d'oncogénétique en France réalisent le criblage des mutations constitutionnelles du gène PTCH1, impliqué dans le syndrome de Gorlin. Ce criblage est effectué soit par séquençage direct des 23 exons de la séquence codante du gène PTCH1, soit par dHPLC et séquençage des profils variants. Les réarrangements de grande taille sont également recherchés. En raison des signes cliniques pathognomoniques du syndrome de Gorlin (kystes odontogéniques, calcification de la faux du cerveau, pits palmo-plantaires, carcinomes baso-cellulaires, +/- médulloblastomes), le taux de détection de mutations constitutionnelles est élevé (50-70%). Afin de diminuer les délais de rendu du résultat génétique, nous avons implémenté en routine la technique EMMA de criblage des mutations ponctuelles et la PCR multiplex semi-quantitative (PMSQ) pour les réarrangements de grande taille de PTCH1. Cette approche intégrée de diagnostic moléculaire permet la prise en charge rapide de projets de recherche.

Matériel et méthodes : Sept multiplex de PCR pour le criblage EMMA ont été élaborés, couvrant les 23 exons codants de PTCH1, ainsi que la jonction intron 23-exon 24 non codant, qui comprend le site de polyadénylation du gène. De même, 3 multiplex de PCR couvrant les 24 exons ont été générés pour l'analyse des réarrangements de grande taille en PMSQ. La base des 180 variants de l'Institut Bergonié a été criblée. Par ailleurs, la performance de l'approche diagnostique intégrée a permis de prendre en charge très rapidement un projet de criblage PTCH1 de 104 médulloblastomes desmoplasiques et non desmoplasiques chez des enfants vus en consultation à l'IGR.

Résultats : Toutes les mutations constitutionnelles du gène PTCH1 de la base des variants de l'Institut Bergonié ont été retrouvées, avec une mutation faux-sens non délétère située dans l'exon 20 plus difficilement détectable. Depuis l'implémentation en routine de cette procédure diagnostique, plus de 150 patients ont été criblés. Un taux important de réarrangement de grande taille de PTCH1 est retrouvé (8%), allant d'un exon à la totalité du gène. Dans le projet IGR, 1 mutation délétère, 3 variants de signification inconnue et une dizaine de nouveaux polymorphismes ont été caractérisés. La base suédoise de mutations constitutionnelles PTCH1 n'étant plus administrée, nous avons créé une base sous UMD, recensant tous les variants de la base Cybergene ainsi que les variants de Bergonié. Cette base UMD est ouverte à tous les utilisateurs à l'image des bases UMD BRCA. Ces différents éléments seront présentés.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P425 - RESEAU "VIVRE AVEC UNE ANOMALIE DU DEVELOPPEMENT EN LANGUEDOC ROUSSILLON" STRUCTURE INNOVANTE D'AIDE A LA PRISE EN CHARGE MEDICO-SOCIALE

B BOLLAERT (1), P SARDA (2)

1. Réseau vivre avec une anomalie du développement en Languedoc Roussillon, Réseau vivre avec une anomalie du développement en Languedoc Roussillon, Montpellier, France
2. centre de référence des anomalies du développement, CHU de Montpellier, Montpellier, France

La région du Languedoc Roussillon est un territoire où les enjeux de la prise en charge des maladies rares sont particulièrement pris en compte. En 2006, lors du forum d'information sur les maladies rares en région, il est apparu que beaucoup de familles se trouvaient dans une errance diagnostique mais aussi en grande difficulté pour connaître les possibilités d'accompagnement. A la demande d'Alliance Maladies Rares, une étude est confiée au CREAI. Les résultats ont été publiés en 2009 faisant ressortir un besoin urgent de mise en place d'un réseau d'accompagnement des familles et des malades. Le Centre de Référence des Anomalies du Développement sollicite un soutien financier pour mettre en place un réseau de santé, « VADLR», qui voit le jour en 2009.

L'ambition du réseau est de diffuser au sein de toutes les institutions qui constituent le maillage territorial régional, les informations nécessaires à la bonne prise en charge des patients que ce soit en termes de soins que d'accompagnement. Ce projet répond à deux mesures phares du Plan National Maladies Rares 2. Le réseau se compose d'une coordinatrice, une secrétaire, une assistante sociale, une psychologue, une administratrice. Il est financé par l'ARS. Les missions du réseau sont de Repérer et répertorier les professionnels de santé et para-médicaux dans le but de faciliter la prise en charge des patients ; Favoriser la prise en charge sociale et éducative ; Mettre en place une formation continue pour les professionnels de santé et les associations de patients.

Le réseau a mis en ligne un site internet en juin 2011, répertoriant les professionnels et donnant de nombreuses informations sur les maladies, la prise en charge. Un système d'adhésion permet aux professionnels, aux familles, aux associations de recevoir les informations sur les journées de formations proposées par le réseau. Au 1er septembre 2011, le réseau compte 502 adhérents. 4 journées ont été organisées sur les thèmes de la Trisomie 21, La Microdélétion 22Q11, la prise en charge précoce et globale des maladies rares, l'X-fragile, (750 participants). Par ailleurs, le réseau rencontrent régulièrement les structures de prise en charge : les écoles, les établissements médico-sociaux, les MDPH et souhaite leur proposer des actions de formation ciblées. Le réseau sensibilise également les futurs professionnels et entame un partenariat avec les écoles de formation. Le réseau participe à deux études nationales avec la CNSA sur l'évaluation régionale du parcours de prise en charge des personnes atteintes d'anomalies chromosomiques et des personnes atteintes de handicaps rares.

En 2012, le réseau souhaite s'agrandir dans le cadre du PNMR2 et s'élargir à l'ensemble des maladies rares en partenariat avec les Centres de Compétence et de Référence des CHU du Languedoc-Roussillon. Il devra tout particulièrement se préoccuper des malades isolés (les maladies d'organes, les troubles envahissants du développement).

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P426 - GERMLINE AIP MUTATIONS IN APPARENTLY SPORADIC PITUITARY ADENOMAS: PREVALENCE IN A PROSPECTIVE SINGLE-CENTER COHORT OF 443 PATIENTS

J BOULIGAND (1), L Cazabat (2), S Salenave (3), M BERNIER (4), S GAILLARD (5), F Parker (6), J YOUNG (7), P CHANSON (8), A GUIOCHON-MANTEL (9)

1. Génétique Moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, Hôpital Universitaire de Bicêtre, Le kremlin-Bicêtre, France
2. Endocrinologie et des Maladies de la Reproduction, Hôpital Universitaire de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
3. Endocrinologie et Maladies de la Reproduction, Hôpital Universitaire de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
4. Anatomopathologie, FOCH, Suresnes, France
5. Neurochirurgie, FOCH, SURESNES, France
6. NEUROCHIRURGIE, Hôpital Universitaire de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
7. Endocrinologie et des maladies de la reproduction, Hôpital Universitaire de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
8. Endocrinologie et maladies de la reproduction, Hôpital Universitaire de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
9. Génétique moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, Hôpital Universitaire Paris Sud, Le Kremlin Bicêtre, France

Context: Germline mutations of the AIP gene are associated with a predisposition to pituitary adenomas. Such mutations are found in about half of patients with familial acromegaly, but penetrance is incomplete.

Objective: We studied the prevalence of germline AIP mutations in a cohort of patients with apparently sporadic pituitary adenomas.

Patients and setting: 443 patients with pituitary adenomas of all histotypes, who had no familial history of pituitary adenomas or multiple endocrine neoplasia and who were examined at Bicêtre University Hospital, a tertiary referral center, between June 2007 and September 2010, were enrolled in this prospective study.

Methods: The entire coding sequence of the AIP gene was screened for germline mutations.

Results: AIP mutations were detected in 16 (3.6%) of the 443 patients, comprising 6/148 patients with acromegaly (4.1%), 6/132 patients with prolactinomas (4.5%), 1/113 patients with non functioning adenomas (0.9%), 3/44 patients with corticotropic adenomas (6.8%) and 0/6 patients with thyrotropic adenomas. Patients with AIP mutation were younger at diagnosis (24.1 vs 42.8 y), and had predominantly macroadenoma (12 of 16). No mutations were found in patients diagnosed after age 40 years, while the prevalence of mutations before this age was 7.2% (16/222). Studies of all the AIP-mutated patients' families showed that one asymptomatic parent carried the same mutation.

Conclusion: The prevalence of germline AIP mutations is very low in patients with apparently sporadic pituitary adenomas. We propose to limit AIP testing to patients diagnosed before age 40 years with apparently sporadic large pituitary adenomas, especially GH- or PRL-secreting.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P427 - AMPLIFICATION MULTIPLEX COUPLEE AU SEQUENÇAGE DE NOUVELLE GENERATION : APPLICATION AU DIAGNOSTIC DE MUTATION SUR LES GENES BRCA1 ET BRCA2

F Coulet (1), P Pires (2), M Eyries (2), C Colas (2), F Soubrier (2)

1. Laboratoire d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire, GH Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
2. Laboratoire d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire, GH Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France

Le criblage des deux principaux gènes de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire BRCA1 et BRCA2 reste long et fastidieux en utilisant les technologies traditionnelles de séquençage Sanger ou de précriblage basées sur la détection d'hétéroduplexes. Le séquençage de nouvelle génération a prouvé sa grande efficacité dans des domaines de recherche, en particulier pour la détection de mutations dans le génome tumoral. Dans cette étude, nous avons testé les amplifications multiplex couplées au séquençage de nouvelle génération pour le diagnostic de routine de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire.

Nous avons pratiqué 5 amplifications multiplex générant 94 amplicons d'environ 400pb ciblés sur les gènes BRCA1 et BRCA2 (BRCAMASTR, Multiplicom), suivi d'une 2e étape d'amplification permettant d'incorporer les codes barres spécifiques de chaque patient. La technologie de séquençage 454 Titanium basée sur l'emulsion PCR et le pyroséquençage a été utilisée sur le séquenceur GS Junior (Roche Diagnostics): 87 patients ont été analysés avec cette technologie, avec un nombre de lectures moyen par run de 85573 correspondant à une couverture moyenne par amplicon de 103X. Les patients testés sont répartis en 2 groupes : un groupe contrôle de 13 patients de génotype connu (précédemment testés par fusion haute résolution HRM) et un groupe de 74 patients de génotype inconnu. Parmi le groupe contrôle, 100% des variants précédemment identifiés (n=116) par HRM ont été détectés, ainsi que 2 polymorphismes homozygotes supplémentaires (non vus par HRM mais confirmés en séquençage Sanger) et 68 polymorphismes supplémentaires (dus à la position des amorces de PCR Multiplex). Le groupe contrôle comportait 9 mutations délétères (1 faux-sens, 2 nonsens et 6 mutations avec décalage du cadre de lecture) dont 4 situées dans des homopolymères. L'ensemble de ses mutations a été identifié grâce à l'utilisation de 2 logiciels complémentaires d'analyse: Amplicon Variant Analyzer (RocheDiagnostics) et SeqNext (JSI Medical Systems). Parmi le 2e groupe, un total de 1030 variants ont été identifiés (122 homozygotes et 908 hétérozygotes), incluant 9 mutations délétères (8 mutations avec décalage du cadre de lecture et une mutation d'épissage). L'ensemble des mutations (n=9) et variants de signification inconnue (n=28) de ce groupe ont été vérifiés par séquençage Sanger.

La combinaison d'amplification multiplex et du séquençage de nouvelle génération permet aujourd'hui d'utiliser le séquençage haut débit en diagnostic de routine. Notre étude a montré une grande spécificité et sensibilité de la technique pour un coût sensiblement comparable aux techniques précédentes (HRM, Sanger). Cependant, dans notre expérience, l'utilisation de 2 analyses indépendantes utilisant des logiciels différents est indispensable. D'autres analyses sont nécessaires pour établir les critères de qualité pour cette technologie lors d'une utilisation dans le cadre de diagnostic génétique de routine.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P428 - MUTATIONS CONSTITUTIONNELLES SUR LE GENE RAD51C IMPLIQUEES DANS LA PREDISPOSITION AU CANCER DU SEIN ET DE L'OVAIRE

F Coulet (1), N Davids (2), A Fajac (3), M Eyries (2), C Colas (2), F Cornelis (4), M Carbonnel (5), A Cortez (6), R Rouzier (7), S Uzan (7), JP Lefranc (8), F Soubrier (2)

1. Laboratoire d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire, GH Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
2. Laboratoire d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire, GH Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
3. Laboratoire d'Histologie Biologie Tumorale, Hôpital Tenon, APHP, Paris, France
4. Service d'Anatomo-pathologie, Hôpital Jean Verdier, APHP, Bondy, France
5. Service de Chirurgie Gynécologique, Hôpital Jean Verdier, APHP, Bondy, France
6. Service d'Anatomo-pathologie, Hôpital Tenon, APHP, Paris, France
7. Service de Chirurgie Gynécologique, Hôpital Tenon, APHP, Paris, France
8. Service de Chirurgie Gynécologique, GH Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France

Les mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 représentent environ 16% des cas de prédisposition héréditaire au cancer du sein. L'origine génétique de ces prédispositions reste donc inexpliquée dans 84% des cas. Plusieurs gènes pourraient être impliqués dans ces formes. Des mutations délétères ont été identifiées dans plusieurs gènes du complexe de Fanconi avec des mutations bialléliques responsables de l'anémie de Fanconi et des mutations monoalléliques responsables de prédisposition génétique au cancer du sein (BRCA2, PALB2, BRIP1). La protéine RAD51C joue également un rôle dans la voie de réparation des cassures double brin de l'ADN et une mutation faux-sens biallélique a été identifiée dans ce gène dans un cas d'anémie de Fanconi. Puis, 6 mutations pathogènes monoalléliques de RAD51C ont été mises en évidence dans une série de 1080 cas index avec prédisposition au cancer du sein et/ou de l'ovaire sans mutation sur les gènes BRCA1 et BRCA2. Depuis, plusieurs études ont été menées dans d'autres populations mais n'ont pas identifié de mutation de RAD51C. Pour savoir si les mutations germinales du gène RAD51C sont associées à un risque élevé de développer un cancer du sein et de l'ovaire, nous avons analysé par séquençage Sanger la séquence codante et les jonctions introns-exons de ce gène chez 92 cas index de familles d'origine française ou européenne présentant des cancers du sein et de l'ovaire et sans mutation sur les gènes BRCA1 et BRCA2. Le criblage du gène RAD51C a permis d'identifier 2 mutations affectant l'épissage de l'exon 7, l'une en position +5 du site donneur (c.965+5A>G), et l'autre en position -2 du site accepteur (c.905-2A>C). Un test par minigène a été réalisé pour démontrer l'incidence de ces mutations sur l'épissage. La séquence de l'exon 7 ainsi que des jonctions intron-exon a été introduite sous les trois formes (sauvage et les 2 mutations distinctes) dans le plasmide rapporteur pSPL3 et des transfections de ces vecteurs ont été réalisées dans des cellules Hela. L'analyse par RT-PCR des cellules transfectées montre que les 2 mutations entraînent un saut complet de l'exon 7, introduisant un décalage du cadre de lecture et un codon stop en position 363. Ce résultat a été confirmé par RT-PCR à partir de l'ARNm isolé des leucocytes d'un des cas index, le prélèvement étant impossible chez le 2e cas index du fait du décès de la patiente.

Dans les 2 cas, les patientes avaient présenté un cancer ovarien : séreux invasif dans un cas et invasif endometrioïde dans le 2e cas, et dans les 2 familles, plusieurs apparentées avaient développé des cancers du sein.

Dans notre étude nous avons identifié 2 mutations délétères parmi 92 familles étudiées, ce qui correspond à une fréquence de 2.2% sur cet échantillon. Nos résultats confirment que le gène RAD51C est un gène de susceptibilité au cancer de l'ovaire et que ce gène doit être étudié dans les familles avec des cas multiples de cancer de l'ovaire, éventuellement associés à des cancers du sein.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P429 - ANALYSE MOLECULAIRE DES TUMEURS COLORECTALES AVEC INSTABILITE DES MICROSATELLITES SANS MUTATION CONSTITUTIONNELLE IDENTIFIEE SUR LES GENES DE REPARATION DES MESAPPARIEMENTS DE L'ADN : IDENTIFICATION D'UNE MOSAÏQUE GERMINALE SUR LE GENE MSH2.

I Sourrouille (1), A Minière (2), G Legrand (2), JH Lefèvre (3), M Eyries (2), Y Parc (1), F Soubrier (2), C Colas (2), F Coulet (4)

1. Service de Chirurgie Digestive, Hôpital Saint Antoine, APHP, Paris, France
2. Laboratoire d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire, GH Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
3. Service de Chirurgie Digestive, Hôpial Saint Antoine, APHP, Paris, France
4. Laboratoire d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire, GH Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France

INTRODUCTION: L'instabilité des microsatellites (MSI) est une des anomalies moléculaires identifiées dans les cancers colorectaux (CCR). Les CCR MSI peuvent être sporadiques en cas d'hypermethylation du promoteur MLH1, ou résulter d'une prédisposition familiale dans le cadre du syndrome de Lynch (mutation constitutionnelle sur un gène de réparation des mésappariements de l'ADN (MMR)). Certains patients ont une tumeur MSI sans que l'origine génétique de l'inactivation du système MMR ne soit démontrée. Nous avons cherché à étudier les anomalies en cause dans ces tumeurs.

MATERIEL ET METHODES: 18 patients présentaient une tumeur MSI avec perte d'expression d'une protéine sans qu'aucune mutation des gènes MMR, ni hyperméthylation du promoteur MLH1 n'ait pu être identifiée. L'ADN a été extrait à partir des échantillons de tissus coliques congelés (sain et tumoral) de ces patients. Nous avons réalisé, sur l'ADN tumoral, une recherche de mutation ponctuelle par séquençage Sanger et de grand réarrangement par MLPA sur les 3 principaux gènes du système MMR (MSH2, MLH1 et MSH6) en ciblant le gène dont la perte d'expression protéique était observée au niveau de la tumeur. Les mutations somatiques identifiées ont été recherchées par fusion haute résolution (HRM) dans l'ADN issu du tissu colique sain et du sang périphérique dans le but d'identifier une mosaïque.

RESULTATS : 7 patients présentaient une extinction de MLH1: 1 mutation a été identifiée dans la tumeur chez 3 patients et 2 mutations dans 1 cas. 8 patients avaient une extinction de MSH2 : 1 mutation a été identifiée chez 2 patients et 2 mutations dans 4 cas. Pour les 5 patients chez qui 2 événements différents ont été identifiés, les explications du phénotype MSI étaient : 3 doubles mutations somatiques, 1 mutation constitutionnelle et 1 mutation en mosaïque. La mutation en mosaïque (c.2541delA, p.Lys847fsX44) a été identifiée sur le gène MSH2, cette mutation est visible sur la tumeur de cette patiente, à un plus faible niveau (estimé à 10% par HRM) dans le tissu colique et non visible sur l'ADN lymphocytaire.

Cette mutation est présente à l'état hétérozygote sur l'ADN lymphocytaire de son fils, démontrant que cette patiente est une mosaïque germinale.

CONCLUSION:

Cette étude a permis d'expliquer complètement le phénotype MSI de 5 patients sur 18. Leur prise en charge et la surveillance des apparentés a donc pu être adaptée: levée de surveillance dans les cas de double mutation somatique et surveillance accrue dans les cas de transmission germinale. Cette étude a permis de décrire le 1er cas de mutation en mosaïque sur un gène MMR. Les résultats de notre étude permettent d'envisager l'exploration des mutations tumorales comme un second temps du diagnostic dans les suspicions de syndrome de Lynch à la recherche des 2 événements ayant conduit à l'inactivation d'un gène du système MMR.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P430 - CANCER DE L'ENDOMETRE : EVALUATION DES DESEQUILIBRES GENOMIQUES PAR HYBRIDATION GENOMIQUE COMPARATIVE DANS LE PROCESSUS DE CARCINOGENESE SUR UNE SERIE DE 60 PRELEVEMENTS.

J Andrieux (1), JF Bernaudin (2), P Birembaut (3), C Coutant (2), M Doco Fenzy (4), D Gaillard (4), C Garbar (5), O Graesslin (6), D Kere (7), E Landais (4), A Lannoy (4), E Raimond (6), R Rouzier (2), F Schneider (4)

1. Institut de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU, Lille, France
2. Gynécologie Obstétrique, CHU de Tenon, Paris, France
3. Laboratoire PolBouin, CHU, Reims, France
4. Génétique, CHU, Reims, France
5. anatomopathologie, Institut Jean Godinot, Reims, France
6. Gynécologie Obstétrique, CHU, Reims, France
7. chirurgie oncologique, Institut Jean Godinot, Reims, France

Le cancer de l'endomètre est fréquent et de bon pronostic dans les stades précoces, mais 25 à 30 % des récidives sont mal corrélées aux facteurs histo-pronostiques classiques. Le but de ce travail est d'identifier d'autres paramètres biologiques utiles dans l'analyse pronostique, afin d'adapter les stratégies thérapeutiques.

Les ADNs de tissus tumoraux frais congelés issus de 40 cancers et 20 hyperplasies endométriales ont été analysés par Hybridation Génomique Comparative (CGH-array) sur des puces de type oligonucléotide (Agilent, 4Í44k), pour identifier des déséquilibres quantitatifs génomiques. En parallèle, un caryotype tumoral est réalisé ainsi que les marquages immunohistochimiques classiques (P53, Ki67, RE, RP).

Aucun déséquilibre délétère n'est mis en évidence dans les hyperplasies ce qui pourrait être expliqué par le fait que les mutations, non détectées par la CGH-array, ont été rapportées comme phénomène initiateur au sein de ces tissus.

Pour les cancers de l'endomètre, des variations du nombre de copies sont retrouvées dans 80 % des cas, touchant toutes les paires de chromosomes. Une médiane de 2 anomalies par patiente est observée (entre 0 et 67 déséquilibres par patiente), avec un ratio amplifications/délétions de 1.5.

Les régions génomiques récurrentes trouvées en déséquilibre dans notre étude et dans la littérature sont notamment des amplifications en 1q21.3 (S100A11), 3q26.32 (PIK3CA), 7q31.2 (WNT2), 8q11.23 (MYC, ST18), et des délétions en 17p13.1 (TP53) et 17q21.3 (BRCA1, HOXB7).

Cette étude montre l'intérêt de la CGH-array dans l'identification et la caractérisation de régions d'intérêt comprenant des gènes potentiellement impliqués dans la carcinogenèse. Ainsi nous avons pu identifier de nouvelles régions comme 9q31.2 (RAD23B) et 16p13.12 (ERCC4), peu décrites antérieurement dans le cancer de l'endomètre. Elles pourraient être utiles dans l'évaluation de l'envahissement local et requièrent de poursuivre les investigations.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P431 - APPORT DU NGS : UNE NOUVELLE ENTITE TUMORALE CARACTERISEE PAR UN REMANIEMENT INTRACHROMOSOMIQUE SPECIFIQUE. (EN COURS DE REVISION POUR PUBLICATION)

A NOVEL SUBTYPE OF BONE SARCOMA DEFINED BY A NEW GENE FUSION. (BEING REVISED FOR PUBLICATION)

G PIERRON (1), F TIRODE (2), C LUCCHESI (2), S REYNAUD (1), S BALLET (1), S COHEN-GOGO (2), JM COINDRE (3), O DELATTRE (4)

1. Unité Génétique Somatique, Institut Curie, PARIS, France
2. U830, Institut Curie, PARIS, France
3. Anatomo-cyto-pathologie, Institut Bergonié, BORDEAUX, France
4. Unité Génétique Somatique, U830, Institut Curie, PARIS, France

La mise en évidence de translocation spécifique à un groupe de tumeurs donné a révolutionné le diagnostic des sarcomes, offrant ainsi de nouvelles perspectives dans la compréhension de l'oncogenèse.

Des prélèvements tumoraux, initialement considérés comme des sarcomes d'Ewing, mais ne présentant aucune des translocations EWS-ETS classiques caractérisant ces tumeurs, ont été étudiés par une approche de séquençage d'ARN haut débit (NGS).

Un nouveau transcrit de fusion, impliquant 2 gènes sur le même chromosome a ainsi pu être mis en évidence. Ces résultats ont ensuite été confirmés par RT-PCR et clonage des points de cassures génomiques et transcriptomiques.

Environ 600 tumeurs à cellules rondes ne présentant aucune des translocations classiques, ont été testées pour ce transcrit de fusion. Après PCR et séquençage de l'ADNc, 24 de ces tumeurs se sont révélées porteuses du même remaniement que celui détecté par séquençage.

Une étude du profil d'expression confirme que ces tumeurs sont strictement différentes et indépendantes biologiquement des tumeurs d'Ewing ou autres sarcomes. Bien que présentant de grandes similitudes au point de vue clinique et morphologique, ces tumeurs se détachent donc nettement du groupe des tumeurs d'Ewing.

Cette nouvelle fusion intra chromosomique, jamais décrite, définit ainsi une nouvelle entité de sarcome osseux, ouvrant la voie à une meilleure compréhension du mécanisme oncogène de ce type de tumeurs.

Cette découverte offre de nouvelles pistes d'investigations thérapeutiques et permettrait d'aboutir à une prise en charge adaptée de ces patients.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P432 - DNA SEQUENCE QUALITY DETERMINATION METHOD/COMMENT DEFINIR LA QUALITE D'UNE SEQUENCE D'AND ?

V BOURDON (1), T NOGUCHI (1), H SOBOL (2)

1. Laboratoire d'oncogénétique moléculaire, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France
2. Faculté de Médecine, Université de la Méditerranée Aix-Marseille II, Marseille, France

In the DNA sequencing, the sequence quality is the most important but still poorly defined parameter. Reanalyzing more than 31 000 sequence traces generated in the clinical diagnosis, we demonstrated that the most commonly used criterion "average quality score" alone is not sufficient for many cases and we propose an easy and inexpensive method to determine the sequence quality for any end-users.

In clinical laboratories, we are regularly confronted with the sequence data quality and our most recurrent question is "Would I use this sequence for my clinical report? How can I know and confirm that this sequence has required quality?"

With the power of next-generation sequencers (NGS), an era of translational medicine seems to be near the reality. Indeed several papers describing the genomic sequencing in clinical diagnostic situations are published recently. However these findings remain still in scope of research. The use of a NGS in clinical diagnostic applications is not yet completely implanted and accepted by the medical community. For the clinical laboratories the move into "the NGS based structure" raises several new issues: the investment cost, the ethical problem, and the need for a radical structural change of their laboratories as well as a radical conceptual change of their practices.

Therefore the capillary sequencers are still mostly used for routines and most important issue is the high quality sequences of less than 1,000 bp length.

In this presentation, we describe an identification and characterization of the most informative parameters to determine the sequence quality. We present these parameters in a combined diagram and decision making list for elimination of unusable sequence traces before analysis with dedicated software.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P433 - RISQUES DE CANCER ASSOCIES AUX MUTATIONS DES GENES MLH1, MSH2 ET MSH6 ESTIMES PAR L'ETUDE FRANÇAISE ERISCAM : QUEL IMPACT SUR LA PRISE EN CHARGE DU SYNDROME DE LYNCH ?

V Bonadona (1), S Olschwang (2), S Grandjouan (3), JP Fricker (4), M Longy (5), R Guimbaud (6), C Delnatte (7), O Caron (8), C Colas (9), C Noguès (10), T Frébourg (11), YJ Bignon (12), S Lejeune-Dumoulin (13), J Duffour (14), D Stoppa-Lyonnet (15), P Berthet (16), S Giraud (17), L Olivier-Faivre (18), D Leroux (19), C Dugast (20), C Maugard (21), P Laurent-Puig (22), TD Nguyen (23), S Manouvrier (24), I Coupier (25), P Gesta (26), H Sobol (27), Q Wang (28), B Bonaïti (29), C Bonaïti-Pellié (30), C Lasset (31)

1. CNRS UMR 5558, Unité de Prévention et Epidémiologie Génétique, Centre Léon Bérard, Lyon, France
2. Inserm U891, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France
3. Service Oncogénétique Digestive, Hôpital Cochin, Paris, France
4. Département de Biologie et Pathologie, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
5. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Institut Bergonié, Bordeaux, France
6. Consultation d'Oncologie Génétique, Institut Claudius Régaud et CHU de Toulouse, Toulouse, France
7. Oncologie Médicale, Centre René Gauducheau, Nantes, France
8. Consultation d'Oncologie Génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
9. Département de Génétique et INSERM UMRS 938, APHP Groupe de la Pité-Salpétrière et Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
10. Consultation de Génétique Oncologique, Institut Curie, Hôpital René Huguenin, Saint-Cloud, France
11. Inserm U614 et Service de Génétique, Faculté de Médecine-Pharmacie-Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
12. Service Oncogénétique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
13. Service de Génétique Clinique, CHRU et Université Lille 2, Lille, France
14. Service d'Oncogénétique Digestive, Centre Val D'aurelle, Montpellier, France
15. Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France
16. Consultation d'Oncogénétique, Centre François Baclesse, Caen, France
17. Service de Genetique Moléculaire et Clinique, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France
18. Service de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants, Dijon, France
19. Département de Génétique et Procréation, CHU de Grenoble - Hopital Couple-Enfants, Grenoble, France
20. Service de Génétique, Centre Eugène Marquis, Rennes, France
21. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
22. Inserm U775, Centre Universitaire des Saints-Pères, Paris, France
23. Consultation d'oncogénétique, Institut Jean Godinot, Reims, France
24. Service de génétique clinique, CHRU de Lille et Université Lille 2, Lille, France
25. Service de Génétique Médicale et Oncogénétique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
26. Pole Oncologie, CHR Georges Renon, Niort, France
27. Département d'Oncologie Génétique et Inserm U891, Institut Paoli-Calmettes et Université de la Méditerranée, Aix-Marseille II, Marseille, France
28. Laboratoire d'Oncologie Moléculaire - Plateforme mixte de génétique constitutionnelle des cancers fréquents, Centre Léon Bérard, Lyon, France
29. INRA-GABI, Inserm U669, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France
30. Inserm U669, Hopital Paul Brousse et Université Paris-Sud, Villejuif, France
31. CNRS UMR 5558, Unité de Prévention et Epidémiologie Génétique, Centre Léon Bérard et Université Lyon 1, Lyon, France

Le syndrome de Lynch, prédisposition héréditaire au cancer colorectal la plus fréquente, est lié à la présence d'une mutation constitutionnelle d'un gène MMR (MisMatch Repair), principalement les gènes MLH1, MSH2 et MSH6, impliqués dans la réparation des mésappariements de l'ADN. Les sujets reconnus porteurs d'une mutation d'un gène MMR ont des risques élevés de développer un cancer colorectal (CCR), un cancer de l'endomètre (CE) et un cancer des ovaires (CO), et des risques plus modestes de développer un cancer de l'intestin grêle, des voies excrétrices urinaires, de l'estomac, des voies biliaires. La connaissance précise de ces risques tumoraux est essentielle pour une prise en charge optimale des patients concernés par le syndrome de Lynch.

L'étude ERISCAM, conduite sous l'égide du Groupe Génétique et Cancer (Unicancer), avait pour objectif d'estimer les risques des différentes tumeurs chez les sujets porteurs d'une mutation d'un gène MMR, en utilisant une méthode statistique originale, appelée GRL (Genotype

Restricted Likelihood), basée sur le principe du maximum de vraisemblance et corrigeant le biais de sélection des familles (Bonaïti et al. EJHG 2011). Cette étude a rassemblé les données de 537 familles françaises avec une mutation d'un gène MMR identifiée (248 MLH1, 256 MSH2, 33 MSH6), recrutées par 40 centres d'oncogénétique participants. Ses résultats ont été publiés (Bonadona et al. JAMA 2011; 305:2304-10).

Une différence significative est retrouvée entre les gènes mutés ($p < 0,001$). Le risque cumulé de CCR est plus faible pour MSH6, de 1% avant 40 ans et de 12% à 70 ans (Intervalle de confiance à 95% : 8-22) contre 41% (25-70) et 48% (30-77) à 70 ans, respectivement pour les gènes MLH1 et MSH2. De même, les risques cumulés à 70 ans de CE et de CO sont de 16 % (8-32) et 1 % (0-3) respectivement, pour le gène MSH6 contre 54% (20-80) et 20 % (1-65) pour le gène MLH1 et 21% (8-77) et 24% (8-32) pour le gène MSH2. Les risques cumulés à 40 ans n'excèdent cependant pas 2 % pour le CE et 1% pour le CO, quelque soit le gène muté. Les risques des autres localisations plus rares n'excèdent pas 2 % quelque soit le gène muté, hormis un risque de cancer de l'estomac à 70 ans de 6% pour MLH1.

Les résultats de l'étude ERISCAM incitent à revoir les recommandations de prise en charge du syndrome de Lynch en tenant compte du gène porteur de la mutation. Pour MSH6, les coloscopies peuvent débuter vers 30 ou 35 ans seulement. Pour MLH1 et MSH2, les risques élevés de CO similaires à ceux estimés dans le syndrome sein-ovaire lié aux gènes BRCA justifient de proposer une ovariectomie prophylactique à réaliser après 40 ans ; qui peut être utilement associée à une hystérectomie compte tenu des risques majorés de CE. En revanche, la chirurgie gynécologique prophylactique ne doit pas être envisagée pour MSH6.

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P434 - ANNEAU ACQUIS DU CHROMOSOME 3 AVEC AMPLIFICATION D'EVI1 DANS UN SYNDROME MYELODYSPLASIQUE CHEZ UNE ENFANT PRESENTANT UNE DYSKERATOSE CONGENITALE

V BARLOGIS (1), J BOUDJARANE (2), A ITTEL (2), C LACOSTE (2), N LEVY (2), G MICHEL (1), C POPOVICI (2), S SIGAUDY (2), H ZATTARA (2)
1. Service d'Onco-Hématologie Pédiatrique, CHU La Timone Enfants, MARSEILLE, France
2. Département de Génétique Médicale, CHU La Timone Enfants, MARSEILLE, France

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont des hémopathies myéloïdes très rares chez l'enfant présentant une grande diversité clinique et biologique. On distingue plusieurs formes dont les myélodysplasies secondaires aux insuffisances médullaires congénitales. Parmi elles, on retrouve la dyskératose congénitale (DC) dans laquelle l'association secondaire à un SMD est quasi-constante. Il n'existe pas d'anomalie cytogénétique acquise spécifique de la DC. Les cas rapportés sur le sujet sont rares et les anomalies décrites sont celles des SMD. Nous décrivons ici le cas d'une jeune fille de 11 ans atteinte d'une DC développant secondairement un SMD avec présence d'anomalies cytogénétiques complexes. Dans ses antécédents, on retrouve un retard de croissance persistant, un glaucome congénital bilatéral, une malformation d'Arnold-Chiari de type 1, une hyperhydrose palmoplantaire, une hyperpigmentation de la peau et des plaques d'alopécie. On ne retrouve pas de dysmorphie ni de retard des acquisitions. Son caryotype constitutionnel et celui de ses parents sont normaux. L'analyse en CGH-array ne permet pas de mettre en évidence de déséquilibre génomique cliniquement significatif. Devant une thrombopénie sévère persistante dont l'origine reste inexpliquée (depuis l'âge de 2 ans) et l'apparition récente d'une anémie, une ponction médullaire est réalisée mettant en évidence une dysplasie des lignées granuleuses et mégacaryocytaires. Le caryotype médullaire montre la présence d'un anneau acquis du chromosome 3 (r(3)(p2?5q26)) présentant une amplification du gène EVI1. Des réarrangements de ce locus et la surexpression d'EVI1 ont été largement décrits et associés à un pronostic péjoratif dans la pathologie myéloïde, dont les SMD. L'amplification d'oncogènes, comme MLL ou AML1, sous forme d'anneau a déjà été décrite dans les SMD en transformation, dont le pronostic est péjoratif. Dans le suivi de la patiente, on observe l'apparition d'anomalies secondaires dont le réarrangement de l'anneau sous forme d'une insertion de matériel de chromosome 3 dans un chromosome 7 (ins(7;3)(q35;q28q12)) qui présente également une hsr (homogeneously staining region) avec l'amplification d'EVI1. Une analyse par CGH-array sur un prélèvement de moelle osseuse réalisé pendant le suivi a permis de caractériser l'amplification. L'étude de l'expression d'EVI1 par RT-Q-PCR n'a pas montré la surexpression de ce gène. Cependant, comme l'étude a été réalisée alors que la patiente était sous 5-azacytidine (agent déméthylant de l'ADN), il est possible que le niveau d'expression d'EVI1 soit modifié par le traitement. Il se pourrait aussi qu'un autre gène de la région soit le « gène pilote » de cette amplification. Ce cas constitue la première identification cytogénétique et moléculaire d'un anneau acquis du chromosome 3 avec amplification de l'oncogène EVI1 dans un cas de SMD.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P435 - APPORT DU PEIGNAGE MOLECULAIRE DANS LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES LEUCEMIES AIGUËS

A ITTEL (1), N LEVY (1), H ZATTARA (1), C CHAIX (1), G MICHEL (2)

1. Département de Génétique Médicale, CHU La Timone Enfants, MARSEILLE, France
2. Service d'Onco-Hématologie Pédiatrique, CHU La Timone Enfants, MARSEILLE, France

Développé dans les années 90 et inspiré des premières techniques de fiber-FISH, le peignage moléculaire (PM) est un procédé qui permet de linéariser la molécule d'ADN sur une surface de verre de manière uniforme et constante. En hybridant des sondes fluorescentes d'acides nucléiques dont les séquences sont complémentaires aux régions génomiques d'intérêt, on peut visualiser la molécule d'ADN à l'échelle du kb et détecter des remaniements de grande taille comme des délétions ou des duplications de plusieurs dizaines à plusieurs centaines de kb ou des anomalies de structure comme les translocations. Initialement employée dans des études sur la réplication de l'ADN, le PM est aujourd'hui une technique utilisée en diagnostic pour les recherches de réarrangements de grande taille des gènes BRCA 1 et 2 et pour le diagnostic moléculaire de la Dystrophie Facio-Scapulo-Humérale. Son intérêt en diagnostic devient une évidence pour des pathologies dans lesquelles les mécanismes moléculaires impliqués sont complexes et l'approche par biologie moléculaire limitée.

En complément des analyses de cytogénétique conventionnelle et moléculaire, nous avons utilisé le PM dans la caractérisation des translocations réciproques générant des gènes de fusion, parmi celles les plus fréquemment rencontrées dans les leucémies aiguës de l'enfant. Après avoir créé des sondes marquées constituées de plusieurs fosmides spécifiques des locus d'intérêt, ces dernières sont hybridées sur des fibres d'ADN peignées extraites à partir de moelle osseuse ou de sang d'enfants présentant une leucémie aiguë. Les signaux de fluorescence obtenus ont permis de mettre en évidence directement les gènes de fusion, hybrides issus des translocations entre 2 gènes, ainsi que la localisation des points de cassures dans chacun des gènes à l'échelle du kb. De plus, avec les mêmes sondes, il a été possible de mettre en évidence une variabilité des points de cassure impliqués dans ces réarrangements, comme cela a pu être décrit dans la littérature.

Avec une échelle d'étude comprise entre celle de la biologie moléculaire et celle de la cytogénétique moléculaire, le PM est une nouvelle approche d'intérêt dans la caractérisation des remaniements moléculaires des leucémies aiguës. Cette technique parait particulièrement intéressante pour des pathologies associées à des remaniements moléculaires complexes et multiples, permettant notamment leur mise en évidence de façon simultanée et rapide alors qu'ils nécessitent plusieurs approches longues en biologie moléculaire classique. La caractérisation rapide des points de cassure impliqués dans ces remaniements constitue non seulement un gain de temps en vue de leur clonage, mais devrait également permettre d'améliorer la prise en charge des malades grâce à la spécificité des «codes barre» générés et la capacité de visualisation simultanée à de multiples loci. L'impact diagnostic et pronostic de cette approche, s'il reste encore à évaluer, nous semble prometteur.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P436 - IMPORTANCE DU TEST DE MICRONOYAUX (MNS) COUPLE A L'HYBRIDATION IN SITU EN FLUORESCENCE (FISH) DANS LA CARACTERISATION DU POTENTIEL GENOTOXIQUE DES ANTICANCEREUX CHEZ LE PERSONNEL HOSPITALIER

S BOURAOUI (1), A BRAHEM (2), S MOUGOU (1), F TABKA (2), M GRIBAA (1), O MAMAI (1), N MRIEZK (1), H ELGHEZAL (1), A SAAD (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, de Biologie moléculaire et de Biologie de la reproduction humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie
2. Service de médecine de travail, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

Introduction

Les cytostatiques sont des médicaments perturbant le cycle de multiplication cellulaire. Leur usage connait un développement important depuis les 30 dernières années. L'effet recherché des anticancéreux est de détruire les cellules malignes mais leur action délétère sur les cellules saines n'est pas négligeable. En conséquence, le risque de contamination du personnel soignant par ces molécules doit être réduit drastiquement vue leur éventuel effet tératogène, génotoxique et même cancérogène .

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'exposition professionnelle à ces substances chez le personnel du soin en utilisant la technique de MNs couplée à la FISH nous permettant ainsi de mieux comprendre l'effet des anticancéreux (aneugène/ clastogène) au niveau des lymphocytes périphériques.

Matériel et Méthodes

Les altérations chromosomiques consécutives à l'exposition professionnelle aux cytostatiques ont été analysés au niveau des lymphocytes périphériques de 20 personnels de santé du CHU Farhat Hached de Sousse (4 hommes et 16 femmes) comparés à 20 témoins appariés pour l'âge, le sexe et le mode de vie. L'évaluation des mutations chromosomiques a été réalisée à l'aide du test de MN avec blocage de la cytodièrèse suite au traitement avec la cytochalasine B (5µg/ml). Deux milles cellules binucléés ont été analysés. La FISH réalisée via l'utilisation de sondes tous centromères permettant de mettre en évidence la composante génétique des MNs.

Résultats et discussion

Le résultat de la FISH avait démontré une fréquence de cellules binucléés micronuclées plus élevée chez le personnel du soin La fréquence de MNs chez les exposés était significativement plus élevée chez le personnel du soin que chez les témoins (7.1‰ ±3.14 contre 2.3‰ ±1.25 ; p

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P437 - CARACTERISATION EPIGENOMIQUE DE TUMEURS MAMMAIRES BASAL-LIKE

M Privat (1), C Tamisier (2), Y Bidet (3), YJ Bignon (2)

1. Département d'Oncogénétique, Centre Jean Perrin, Clermont Ferrand, France
2. Département d'Oncogénétique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
3. Département d'Oncogénétique, Université d'Auvergne, Clermont Ferrand, France

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme, en France et dans le monde, et touche près d'une femme sur 10. Au niveau moléculaire, la classification des cancers mammaires repose sur l'analyse de leur profil d'expression génique. Proposée il y a maintenant 10 ans, elle différencie 5 types, en fonction notamment de l'expression des récepteurs hormonaux.

Les tumeurs du sous-type « basal-like » sont caractérisées par une absence d'expression des récepteurs hormonaux, une absence d'amplification du gène HER2 et une forte expression de différents gènes caractéristiques des cellules souches. Ces tumeurs sont en général agressives et de mauvais pronostic mais aucun traitement ciblé n'est disponible à ce jour pour ce groupe de tumeurs.

Les tumeurs mammaires de type basal-like semblent présenter un « profil hyperméthylé » par rapport aux autres sous-types. De plus, l'extinction d'expression génique via des modifications épigénétiques est désormais reconnue comme aussi importante pour l'oncogenèse que les mutations somatiques.

Notre étude vise à réaliser une caractérisation épigénétique de la sous-classe « basal-like » de tumeurs mammaires afin de mettre en évidence les modifications de la méthylation de l'ADN spécifiques de cette carcinogénèse. Pour cela nous avons immunoprecipité l'ADN methylé tumoral puis cet ADN methylé a été séquencé en masse sur un séquenceur de type GS-FLX. En complément l'expression des gènes a été mesurée par séquençage des ARNm tumoraux. Cette stratégie permet à la fois de mettre en évidence les régions hyperméthylées en fonction des différents types tumoraux mais également d'observer les conséquences de cette méthylation de l'ADN sur la régulation de l'expression des gènes.

Actuellement cette méthodologie a été appliquée à dix lignées de cellules tumorales mammaires appartenant à différents sous-types moléculaires. Les résultats sont en cours d'analyse et pourront être présentés aux Assises de Génétique 2012. Nous projetons également d'élargir notre étude à des tumeurs congelées de type « basal-like ».

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P438 - UNE ANALYSE CONSTITUTIONNELLE DES GENES BRCA1 ET BRCA2 POURRAIT ETRE PROPOSEE DEVANT TOUT CANCER DU SEIN SPORADIQUE AVANT 41 ANS

M Guillaud-Bataille (1), A Remenieras (1), V Byrde (2), E Consolino (2), M Di Maria (2), S Delaloge (2), GM Lenoir (1), B Bressac-De Paillerets (1), O Caron (1)

1. Service de Génétique, Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France
2. Département de Médecine, Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France

Une mutation constitutionnelle dans les gènes BRCA1 et BRCA2 prédispose aux cancers du sein et de l'ovaire, et est recherchée devant des histoires familiales de ces cancers. Cependant, la survenue d'un cancer du sein sporadique jeune doit également faire évoquer la possibilité d'une telle prédisposition. Un groupe d'experts INSERM-FNCLCC avait retenu en 2004 une indication de test génétique dans ces cas sporadiques, uniquement si le cancer du sein survenait avant 30 ans. En 2009 puis en 2011, un nouveau groupe d'experts a défini que ces critères, largement utilisés en France, n'étaient pas assez sensibles, et a conclu qu'un test pouvait avoir sa place pour tous les cancers du sein survenus avant 36 ans. Pour évaluer s'il y a une indication au delà de cet âge, nous avons étudié 272 patientes adressées au cours de ces 6 dernières années à la consultation de génétique de notre institut par leur chirurgien ou leur oncologue, uniquement en raison de leur âge jeune inférieur à 41 ans au diagnostic de leur cancer du sein. L'interrogatoire ne retrouvait pas d'antécédent familial de cancer du sein ou de l'ovaire. Les gènes BRCA1 et BRCA2 ont été analysés par séquençage et MLPA. Parmi les 272 femmes, 9 (3.3%) avaient moins de 26 ans, 50 (18.4%) entre 26 et 30 ans, 98 (36%) entre 31 et 35 ans, et 115 (42.3%) entre 36 et 41 ans. Le taux de mutation global était de 13.6%, avec 24 mutations de BRCA1(8.8%) et 13 mutations de BRCA2(4.8%). Par classe d'âge, on trouvait 11% de mutations chez les moins de 26 ans, 20% chez les 26-30 ans, 10.2% chez les 31-35 ans, et 13.9% chez les 36-41 ans. 21 patientes présentaient un cancer du sein bilatéral, et nous avons retrouvé chez elles 4 mutations de BRCA1 et 3 mutations de BRCA2, soit un taux de mutation de 33.3%. Pour 191 tumeurs, les statuts des récepteurs hormonaux et de Her2 étaient connus. 50 patientes présentaient au moins une tumeur triple négative, et parmi elles 15 (30%) avaient une mutation de BRCA1, et une avait une mutation de BRCA2. Parmi les 46 tumeurs Her2 positives, 2 mutations de BRCA1 et 1 mutation de BRCA2 ont été détectées.

En conclusion, notre étude montre l'intérêt d'une analyse des gènes BRCA chez toute femme présentant un cancer du sein avant 41 ans. En particulier, un taux de 13.9% a été détecté pour les personnes dont le cancer a été diagnostiqué entre 36 et 41 ans. Les résultats semblent indiquer que le caractère bilatéral (21 cas) est un argument supplémentaire, puisqu'un tiers de ces cas ont une mutation, contre 13.6% pour l'ensemble de la cohorte. Comme attendu, le caractère triple négatif oriente vers une mutation de BRCA1. Enfin, le statut Her2 positif ne permet pas d'exclure la présence d'une mutation, mais la rend peu probable (2/46, soit 4%).

Ces résultats, obtenus prospectivement sur une série importante de cas de manière monocentrique, , s'ils devaient être confirmés dans d'autres centres, pourraient conduire à modifier les recommandations des tests BRCA chez les femmes jeunes.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P439 - APPLICATION DE LA TECHNIQUE DE PCR SEMI-QUANTITATIVE A LA DETECTION DES SUJETS PORTEURS D'UNE DELETION HETEROZYGOTE DU GENE SMN1

Y Elaribi (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

Introduction : L'amyotrophie spinale (AMS) est une maladie neuromusculaire caractérisée par une dégénérescence des motoneurones alpha de la corne antérieure de la moelle épinière entraînant une atteinte neurogène périphérique et une amyotrophie des muscles squelettiques. Sa prévalence est très variable comprise entre 1/6000 et 1/10000, celle des hétérozygotes est de 1/50. Son gène déterminant est le gène SMN (gène de survie des motoneurones). Il s'agit d'un gène dupliqué en une copie centromérique (SMNc ou SMN2) et une copie télomérique (SMNt ou SMN1). Cette dernière constitue la copie fonctionnelle du gène. Une délétion homozygote de l'exon 7 du SMNt est retrouvée dans 95% des cas d'AMS. Il existe une étroite corrélation inverse entre la sévérité clinique de la maladie et le nombre de copies du gène SMN2. La détermination du nombre de copies du gène SMN1 est nécessaire afin de détecter les hétérozygotes. La PCR fluorescente multiplex semi-quantitative est une technique simple et efficace pour quantifier le nombre de copies géniques.

L'objectif : de notre travail est de déterminer la fréquence des hétérozygotes pour le gène SMN1 dans un échantillon de la population tunisienne et de quantifier le nombre de copies du gène SMN2 chez les patients atteints d'AMS afin d'établir une corrélation génotype - phénotype. Notre échantillon étudié est constitué de 36 sujets sains, de 24 patients atteints et de leurs 48 parents.

Résultats : 97 % des parents des malades étaient hétérozygotes pour les délétions du gène SMN1. Parmi les témoins sains, la fréquence des hétérozygotes est de 1/36 et celle du génotype 3 copies SMN1 est de 1/12. Le nombre de copies du gène SMN2 chez les patients varie de 1 à 6 copies : 54% tous de type I ont deux copies, 33% dont la moitié environ sont atteints par des formes modérées (type II et III) possèdent 3 copies et 13% ont 1, 4 ou 6 copies. La corrélation génotype- phénotype n'est absolue.

Conclusion : Ces résultats nous permettent de valider la technique de PCR fluorescente semi-quantitative pour la détection des délétions hétérozygotes du gène SMN1. Par conséquent, elle favorise un conseil génétique fiable et permet de limiter les indications du diagnostic prénatal en l'absence du cas index. Afin de vérifier la fréquence préliminaire des hétérozygotes, retrouvée dans notre échantillon, une étude à l'échelle de la population tunisienne, est envisagée.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P440 - IDENTIFICATION DE NOUVELLES MUTATIONS DU GENE FLCN CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS PAR LE SYNDROME DE BIRT-HOGG-DUBE OU PRESENTANT UN CANCER DU REIN SPORADIQUE

S Gad (1), P Delobre (2), MA Collonge-Rame (3), T Martin-Denavit (4), C Delnatte (5), C Dugast (6), P Berthet (7), A Calender (2), S Richard (8), S Giraud (2)

1. Laboratoire de Génétique Oncologique EPHE et INSERM U753, Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France
2. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Hôpital E. Herriot, Lyon, France
3. Service de Génétique, CHU Besançon, Hôpital St Jacques, Besançon, France
4. Service de Dermatologie, Hospices Civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon-Sud, Lyon, France
5. Service d'Oncologie, Centre René Gauducheau, Nantes, France
6. Service de Génétique, Centre Eugène Marquis, Rennes, France
7. Oncogénétique, Centre François Baclesse, Caen, France
8. Centre Expert National Cancers Rares PREDIR, AP-HP/INCa, Service d'Urologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

Le syndrome de Birt-Hogg-Dubé (BHDS) est caractérisé par l'association de fibrofolliculomes cutanés, de kystes pulmonaires, de pneumothorax spontanés et la survenue de cancers du rein chez 20% des patients. Dans la plupart des cas, les tumeurs rénales sont multifocales et bilatérales et peuvent correspondent à différents types histologiques : carcinomes chromophobes et tumeurs hybrides chromophobes-oncocytomes le plus souvent, mais aussi oncocytomes, carcinomes à cellules claires et carcinomes papillaires.

L'affection est due à des mutations germinales du gène FLCN (ex-BHD), localisé en 17p11.2, qui code la folliculine, impliquée dans la voie mTOR.

Les données cliniques et génétiques d'une série de 375 patients adressés pour suspicion de BHDS dans le Service de Génétique de Lyon sont ici résumées. La recherche de mutations ponctuelles de FLCN a été réalisée par séquençage direct et la recherche de réarrangements par multiplex PCR-DHPLC.

Un total de 40 variants différents, dont la moitié jamais décrits, ont été identifiés : aucun réarrangement de grande taille mais 18 décalages du cadre de lecture, 8 non-sens, 8 faux-sens et 6 variants potentiels d'épissage. Dans ce dernier cas, l'analyse de l'ADNc a permis de montrer un défaut d'épissage. Concernant les variants faux-sens, l'utilisation de plusieurs sites Internet permettant une analyse in silico peut apporter une aide utile en l'absence de test fonctionnel.

Une mutation germinale de FLCN a été détectée chez plus de 70% des patients présentant une association d'au moins deux lésions caractéristiques du BHDS ou de multiples fibrofolliculomes seuls. De plus, une mutation a été retrouvée chez 27 apparentés (42,8%), certains ne présentant aucun signe clinique au moment du test génétique. En revanche, une mutation germinale de FLCN n'a été détectée que dans moins d'1% des cas chez les patients présentant un cancer du rein isolé.

Ainsi, l'association de lésions du BHDS chez un patient ou dans une famille est une bonne indication pour la recherche de mutations germinales de FLCN, contrairement au cancer du rein sporadique. Le diagnostic génétique est utile dans les familles atteintes par le BHDS car de nombreux apparentés sans signes cliniques évidents se révèlent porteurs du gène muté.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P441 - RESULTATS DE L'ETUDE CYTOGENETIQUE DES HEMOPATHIES MALIGNES APRES GREFFE DE MOELLE OSSEUSE : EXPERIENCE DU LABORATOIRE DE CYTOGENETIQUE DE L'INSTITUT PASTEUR DE TUNIS

N ABIDLI (1), W AYED (1), T BEN OTHMANE (2), H GUERMANI (1), O KILANI (1), S LADAB (2), A LAKHAL (2), F TALMOUDI (1), L TORJMANE (2)

1. Laboratoire de CYTOGENETIQUE, Institut Pasteur, Tunis, Tunisie
2. Unité de greffe de moelle osseuse, Centre National de Greffe de Moelle Osseuse (CNGMO), Tunis, Tunisie

En plus de la chimiothérapie ou en association, l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques constitue un traitement de référence de certaines hémopathies malignes. Elle a pour but d'éradiquer le clone malin grâce au conflit immunologique inhérent à l'installation des cellules souches hématopoïétiques du donneur chez le receveur.

Par le caryotype, la cytogénétique constitue un examen de référence dans le diagnostic de ces hémopathies, l'orientation du traitement mais aussi dans le suivi de la maladie résiduelle et de la prise de greffe.

Nous rapportons dans ce travail l'évaluation du chimérisme et de la maladie résiduelle chez 106 patients greffés pour pathologies hématologiques malignes recensés dans notre laboratoire de Cytogénétique de l'Institut Pasteur de Tunis entre Mai 2002 et Octobre 2011. Un total de 345 caryotypes sanguins et médullaires a été réalisé dans ce cadre.

Notre étude a porté sur 48 patients de sexe féminin et 78 patients de sexe masculin. La moyenne d'âge était de 26,4 ans avec des extrêmes de 6 à 58 ans.

Les leucémies aigües et chroniques constituaient l'indication majeure de greffe de cellules souches hématopoïétiques avec 49 cas de leucémie aigüe myéloïde, 34 cas de leucémie aigüe lymphoblastique et 25 cas de leucémie myéloïde chronique. En plus faible proportion, d'autres hémopathies tels que le myélome multiple, la maladie de Hodgkin et les syndromes myélodysplasiques ont fait l'objet de greffe de moelle osseuse.

Si le caryotype sanguin permet d'avoir une estimation du degré de chimérisme quand le donneur et le receveur sont de sexe opposé, le caryotype médullaire permet de suivre le clone pathologique découvert avant la greffe et parfois de déceler des anomalies chromosomiques additionnelles en cas de rechute ou d'aggravation de la maladie. Cependant, l'analyse cytogénétique basée sur le décompte des mitoses Philadelphie positives chez les patients porteurs d'une LMC et greffés devient insuffisante et doit obligatoirement être complétée par des techniques plus sensibles telle que la RT-PCR quantitative.

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P442 - INVESTIGATION DES GENES APOPTOTIQUES DANS LES HEMOPATHIES MALIGNES FAMILIALES

INVESTIGATION OF APOPTOTIC GENES IN FAMILIAL HAEMATOLOGICAL MALIGNANCIES

WS HAMADOU (1), R ELABED (2), Y BEN YOUSSEF (3), E COUQUIAUD (4), S GUERY (4), A KHELIF (3), V BOURDON (4), H SOBOL (4), Z SOUA (1)
1. UR : Biologie moléculaire des leucémies et lymphomes, Faculté de Médecine, sousse, Tunisie
2. Biologie moléculaire des leucémies et lymphomes, Faculté de Médecine, sousse, Tunisie
3. Service d'Hématologie Clinique, CHU F.Hached, sousse, Tunisie
4. Département d'Oncologie Génétique de Prévention et Dépistage, IPC, marseille, France

Plusieurs gènes associés aux hémopathies malignes ont été décrits dans la littérature, mais les bases génétiques des agrégations familiales restent encore mal connues. Nous nous intéressons dans cette étude à investiguer les gènes impliqués dans l'apoptose telsque : ARTLS1 (régulation de l'expression des protéines apoptotiques), PRF1 (fonction lytique et immunosruveillance des lymphocytes T), CASP8 (apoptose), FAS/ FASLG (nécroses cellulaire et apoptose).
Afin de déterminer l'implication de ces gènes dans l'apparition des formes familialesdes hémopathies malignes, nous avons procédé dans cette étude préliminaire à la recherche des mutations germinales récurrentes chez 8 patients tunisiens apparentés deux à deux.
L'identification des mutations à été faite par séquençage direct des régions codantes des cinq gènes candidats : ARTLS1, PRF1, CASP8, FAS et FASLG. Les patients analysés présentent au diagnostic différents types d'hémopathies malignes : maladie de Hodgkin (MDH), lymphome non hodgkinien (LNH), syndrome myélodysplasique (SMD), leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) et leucémie myéloïde chronique (LMC).
Cette stratégie nous a permis d'identifier 4 mutations pour le gène FAS dont 3 sont silencieuses et une mutation faux sens isolée (c.365C>T p.Thr122Ile). Pour le gène ARTLS1, une mutation silencieuse à l'état hétérozygote (c.570C>T p.Arg190Arg) est retrouvée chez 2 patients apparentés et une mutation faux sens à l'état homozygote et hétérozygote (c.442T>C p.Cys148Arg) chez 5 patients dont 4 apparentés deux à deux. Pour le gène CASP8 on a détecté une mutation silencieuse à l'état homozygote (c.1011G>A p.Lys337Lys) chez 2 patients apparentés et une mutation faux sens isolé à l'état homozygote (c.904 C>G p.Asp302Glu) chez un seul patient. Pour le gène PRF1 trois mutations silencieuses à été trouvé. Pour le gène FASLG on a rien trouvé.
Cette étude sera poursuivie sur d'autres cas d'hémopathies familiales et sera complétée par une étude d'association sur les variants faux sens identifiés et décrits déjà associés dans d'autres types de cancer. Une étude épigénétique sera envisagée pour bien comprendre les cas d'agrégations familiales des hémopathies malignes afin de disposer d'outils de diagnostic fiable permettant d'améliorer la prise en charge médicale des patients à haut risque.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P443 - DEUX NOUVELLES OBSERVATIONS CORTICO-SURRENALOME / SYNDROME DE LYNCH : COÏNCIDENCE OU TUMEUR RARE DU SPECTRE ?

L BERMONT (1), C BORG (2), JL BRESSON (3), MA COLLONGE-RAME (3), A DAMETTE (3), A PENFORNIS (4), C POPULAIRE (3), S VALMARY-DEGANO (1)

1. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Plateforme de génétique moléculaire des cancers, CHU, Besançon, France
2. Service d'Oncologie Médicale, CHU, Besançon, France
3. Unité d'Oncogénétique, Service de Génétique Biologique, CHU, Besançon, France
4. Service d'Endocrinologie- Métabolisme et Diabétologie-Nutrition, CHU, Besançon, France

Le syndrome de Lynch ou syndrome HNPCC (Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer) est une prédisposition héréditaire au cancer colorectal liée à la présence d'une mutation constitutionnelle d'un gène impliqué dans le système de réparation des mésappariements de l'ADN (ou système MMR (mismatch repair)) : MSH2, MLH1, MSH6 et PMS2.

Les sujets porteurs de ces mutations ont un risque élevé de cancer colorectal sans polypose et de l'endomètre, et des risques plus modérés de cancer de l'ovaire, de l'intestin grêle, de l'estomac, des voies biliaires et urinaires. Deux formes phénotypiques particulières sont associées à la présence de tumeurs cérébrales ou de tumeurs cutanées.

La survenue de tumeurs rares chez les patients porteurs d'une prédisposition pose la question d'un lien avec le syndrome. Nous décrivons chez 2 patients présentant une mutation d'un gène MMR, la survenue d'un cortico-surrénalome, tumeur non associée au spectre tumoral du syndrome HNPCC.

- Un homme porteur d'une mutation du gène MSH2 ayant développé un cortico-surrénalome à l'âge de 36 ans. La recherche d'instabilité des microsatellites montre un phénotype microsatellite stable ; l'immuno-histochimie, une extinction des protéines MSH2 et MSH6 par les cellules tumorales.
- Un homme porteur d'une mutation du gène MLH1 âgé de 45 ans, ayant développé un carcinome sébacé et un cortico-surrénalome. La recherche d'instabilité des microsatellites effectuée sur ce dernier montre une instabilité pour 3 des 5 marqueurs testés : le phénotype MSI a donc été retenu. L'immuno-histochimie réalisée sur la lésion tumorale montre une extinction des protéines MSH2, MLH1 et PMS2 par les cellules tumorales. La recherche de la mutation BRAF V600E est négative.

A ce jour, trois publications rapportant la survenue d'un cortico-surrénalome chez des patients porteurs d'une mutation du gène MSH2 ont été décrites dans la littérature. Dans ces 3 cas, l'étude de l'instabilité des microsatellites montre un phénotype stable et une perte d'expression de la protéine MSH2 en immuno-histochimie est observée pour 2 tumeurs.

A notre connaissance, il s'agit donc du premier cas rapporté de cortico-surrénalome présentant un phénotype microsatellite instable chez un patient porteur d'une mutation dans le gène hMLH1. Dans cette observation, la survenue de la tumeur endocrinologique serait la conséquence d'un défaut de réparation de l'ADN en lien avec la mutation constitutionnelle du gène MLH1.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P444 - MISE EN EVIDENCE DE MUTATIONS DES GENES BMPR1A ET SMAD4 DANS TROIS FAMILLES DE POLYPOSES ATYPIQUES.

M Warcoin (1), F Coulet (1), M Eyries (1), N Davids (1), Y Parc (2), F Campoetto (3), L Beaugerie (4), F Soubrier (1), C Colas (1)

1. Laboratoire d'oncogénétique et angiogénétique moléculaire, Hôpital Pitié-Salpêtrière AP-HP, Paris, France
2. Service de chirurgie digestive, Hôpital Saint-Antoine AP-HP, Paris, France
3. Service de gastroentérologie pédiatrique, Hôpital Necker AP-HP, Paris, France
4. Service d'hépato-gastroentérologie, Hôpital Saint-Antoine AP-HP, Paris, France

Les polyposes juvéniles se caractérisent par le développement de multiples polypes juvéniles dans le tractus gastro-intestinal. L'incidence de ce type de polyposes est estimée à environ 1/100.000 personnes. Deux gènes sont actuellement identifiés comme responsables de polyposes juvéniles autosomiques dominantes : SMAD4 et BMPR1A. Les mutations du gène SMAD4 associent à la polypose une maladie de Rendu-Osler pouvant se manifester par des épistaxis, des télangiectasies et des malformations artério-veineuses.

Les polypes juvéniles sont une sous-classe des polypes hamartomateux. Des polyposes dites hamartomateuses sont retrouvées dans d'autres syndromes génétiques tels que le syndrome de Cowden dû à des mutations du gène PTEN ou le syndrome de Peutz-Jeghers dû à des mutations du gène STK11, tous deux associés à d'autres manifestations cliniques spécifiques.

Dans cette étude nous présentons 3 familles ayant une polypose colique mixte dont la caractérisation histologique n'était pas évocatrice d'une polypose juvénile. En effet, deux d'entre elles étaient qualifiées de polyposes inflammatoires, et toutes trois présentaient différents types de polypes parmi lesquels des adénomes. C'est la présence de ces adénomes qui nous a conduit à tester en premier lieu chez deux de ces patients les gènes APC et MUTYH, responsables de polyposes intestinales adénomateuses.

Aucune mutation n'ayant été identifiée, les gènes responsables de polyposes hamartomateuses: STK11, PTEN, BMPR1A et SMAD4 ont été testés secondairement. Deux mutations de SMAD4 et une mutation de BMPR1A ont ainsi été identifiées dans ces familles. La relecture des lames histologiques a confirmé a posteriori la présence de polypes compatibles avec une histologie juvénile. La notion d'épistaxis a été recherchée à l'interrogatoire et retrouvé chez tous les patients présentant une mutation de SMAD4. La découverte de ces mutations a permis de proposer un test ciblé chez les apparentés et d'adapter le suivi des membres de la famille.

De façon intéressante, un des patients, sans antécédents familiaux, s'est avéré porteur d'une néomutation en mosaïque du gène SMAD4.

Cette étude rend compte de l'interêt d'analyser les gènes BMPR1A et SMAD4 devant une polypose inexpliquée lorsqu'il existe une histologie « atypique », y compris associée à des adénomes, et ceci, même en l'absence d'antécédents familiaux.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P445 - ETUDE DE COHORTE FRANÇAISE SUR L'ATAXIE TELANGIECTASIE (COF-AT) : 2003-2012, ETAT D'AVANCEMENT ET PREMIERS RESULTATS

E Cavaciuti (1), A Barre (1), J Lecarpentier (1), M Labbé (1), MG Dondon (1), C Dubois D'Enghien (2), A Laugé (2), A Combès (3), I Coupier (3), N Janin (4), JO Bay (5), J Hall (6), D Stoppa-Lyonnet (7), N Andrieu (1)

1. Inserm U900, Mines ParisTech, Service de Biostatistiques, Institut Curie, Paris, France
2. Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France
3. Service de Génétique médicale et Oncogénétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, Montpellier, France
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, France
6. Inserm Unité 612, Institut Curie, Orsay, France
7. Inserm U830, Université Paris-Descartes, Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France

Contexte

L'Ataxie Télangiectasie (A-T) est une maladie de l'enfant, transmise selon le mode récessif, caractérisée par une ataxie cérébelleuse dégénérative, des télangiectasies cutanées ou muqueuses, un déficit immunitaire et un risque augmenté de cancer. Le gène ATM, identifié comme principal responsable de la maladie, est impliqué dans la réparation des cassures double-brin de l'ADN. Une augmentation du risque de cancer, en particulier de cancer du sein (CS), parmi les apparentés des enfants A-T, est connue mais les estimations restent imprécises. Bien que l'A-T soit une maladie rare, 0.5% de la population générale pourrait être hétérozygote A-T (hetAT).

Objectif

CoF-AT est une étude de cohorte prospective de femmes apparentées à un enfant atteint d'A-T ayant pour but de préciser le risque de cancer associé à l'hétérozygotie A-T.

Protocole

Les femmes, invitées par le centre coordonateur (CC) et par l'intermédiaire des médecins et des associations, sont inclues en consultation d'oncogénétique et suivies pendant 10 ans. Leur statut hetAT ou non hetAT est déterminé à partir d'un prélèvement sanguin. Le CC collecte puis valide par entretiens téléphoniques les questionnaires épidémiologiques portant sur leur histoire médicale et gynéco-obstétrique, leur exposition aux radiations ionisantes…, numérise leurs mammographies pour calculer la densité mammaire et enregistre les données familiales (antécédents de cancer). Une tumorothèque est prévue à partir des cas incidents de CS.

Etat d'avancement

181 familles A-T parmi les 221 recensées en France porteuses d'au moins une mutation identifiée, ont été invitées à participer. Initiée en 2003, CoF-AT compte en octobre 2011 : 410 femmes (96 familles) ayant accepté de participer, 388 consultations d'inclusion, 361 consentements reçus, 355 prélèvements sanguins, 362 questionnaires d'inclusion, 511 questionnaires de suivi (à 2, 4 et 6 ans) et 396 mammographies numérisées. Le nombre de participantes restant plus faible qu'attendu, et ce malgré la mise en place de consultations de génétique par téléphone facilitant les inclusions, le recrutement est prolongé jusqu'à janvier 2013.

Premiers résultats

Une étude comparant les femmes hetAT et non hetAT pour leur style de vie, leurs antécédents de maladies et leurs expositions environnementales, ne montre pas de différence significative pour la plupart des facteurs étudiés (ex. BMI, maladies cardiovasculaires, prise de traitements

hormonaux), hormis une fréquence plus élevée de cancer chez les hetAT. Par contre, les mères d'enfants A-T diffèrent des autres hetAT par leur consommation de tabac, le recours aux médicaments, la fréquence des mammographies et la périodicité de leurs cycles.

Remerciements
CoF-AT est soutenue par le Ministère de la Recherche, l'Inserm, la Fondation de France, le Conseil Scientifique de Radioprotection d'EDF, La Ligue Nationale Contre le Cancer et la MGEN. Nous remercions vivement les participantes, les médecins et les associations A-T.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P446 - RETOUR D'EXPERIENCE SUR LA QPCR-HRM EN ONCOGENETIQUE : DE LA MISE AU POINT A LA DECOUVERTE DE NOUVEAUX VARIANTS

C Lefol (1), F Copigny (1), C Guy (1), C Derouet (1), L Gourdain (1), S Vacher (1), C Andrieu (1), A Briaux (1), S Caputo (1), I Bièche (1), R Lidereau (1), E Rouleau (1)

1. Oncogénétique, Institut Curie - Hopital René Huguenin, Saint-Cloud, France

Nous souhaitons ici faire le point sur l'utilisation de la qPCR-HRM sur plusieurs gènes impliqués dans la prédisposition au cancer : BRCA1, BRCA2, MSH2, EPCAM, MLH1, MSH6, MET, MUTYH, et CDH1. Le principe général est l'amplification de la totalité de ces gènes avec des amorces sélectionnées pour permettre un dosage génique. Chaque amplicon est étudié en triplicat.

En tout, plus de 600 patients ont été analysés sur ces différents gènes. 99 mutations délétères ont été identifiées et ainsi que 129 variants de signification inconnue (VSI). La mesure quantitative permet de détecter la présence de mutations dans les amorces, détectées dans 18 cas sur 427, soit 3.5% des patients. Il s'agit de 10 VSI différents et 3 délétères dont une délétion de 104-pb dans l'exon 11. Ces variants n'étaient pas détectés en séquençage direct. De plus, dans le gène BRCA1, de nombreux polymorphismes homozygotes ont pu être détectés ce qui n'est pas le cas du gène MUTYH. Dans ce cas, nous avons pu montrer que 4/9 des variants homozygotes n'étaient pas détectés malgré le triplicat ce qui nous a amené à mettre en place une approche comprenant un mélange d'ADN (ADN Promega) pour le criblage de MUTYH. Au total, 10 grands réarrangements ont été identifiés sur ces gènes dont des réarrangements rares sur les gènes CDH1 et MUTYH. Sur le gène MUTYH, il a ainsi été détecté une délétion des exons 4 à 16 sur le gène MUTYH associée avec une mutation c.1145G>A, perçu comme faussement homozygote en séquençage. Le nombre de faux positifs a été de 8% pour les grands réarrangements associés en général à des ratios limites (0.75).

Nous avons révélé deux cas limites en HRM sur les variants de BRCA1 c.6405_6408del, p.Asn2135LysfsX32 et de MSH6 (c.2253T>C, p.=). Le variant de MSH6 a été détecté sur l'amplicon chevauchant. Le variant de BRCA1 a été détecté sur un test génétique. Ces cas montrent la nécessité de poursuivre la validation de ces méthodes en fonction des anomalies identifiées. Nous validons en continu nos contrôles positifs par l'approche HRM.

Enfin, cette approche fournit des données quantitatives sur les performances des amorces utilisées permettant de valider la qualité des résultats. Les Cp sont suivis pour détecter s'il y a dégradation des amorces et ont globalement sur BRCA1/ BRCA2 un écart-type moyen de 0.08. Le Tm de la courbe de fusion permet de valider la nature des amplicons étudiés avec une excellente robustesse et des écart-types de 0.03.

Au final, cette approche permet de cribler de manière satisfaisante les variations génétiques en limitant les faux négatifs dus à la présence d'une mauvaise amplification ou des variations rares comme des réarrangements de moyenne taille ou des insertions de séquences Alu. La prochaine évolution de cette approche sera certainement l'automatisation informatique des analyses.

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P447 - DIAGNOSTIC D'UNE FORME ATYPIQUE DE POLYPOSE ADENOMATEUSE FAMILIALE LIEE AU GENE MUTYH PAR L'ETUDE SOMATIQUE DE KRAS REVELANT LA MUTATION C.34G>T.

S Lejeune (1), N Dewulf-Pasz (1), S Cattan (2), F Zerimech (3), A Wacrenier (4), S Manouvrier (1), MP Buisine (5)
1. Service de Génétique clinique, CHRU, Lille, France
2. Service de Gastro-entérologie, CHRU, Lille, France
3. Oncologie et biologie moléculaire, CHRU, Lille, France
4. Service d'Anatomie-Pathologie, CHRU, Lille, France
5. Oncologie et Biologie moléculaire, CHRU, Lille, France

La MAP (MUTYH Associated Polyposis) est une polypose adénomateuse familiale colorectale due à une inactivation bi-allélique du gène MUTYH. Il s'agit d'une affection génétique de transmission autosomique récessive se traduisant par la survenue de multiples adénomes et une augmentation du risque de cancer colorectal. La protéine MUTYH est impliquée dans la réparation des lésions de l'ADN par excision de bases (BER, Base Excision Repair). Des études ont montré que les mutations bi-alléliques de MUTYH étaient associées à une augmentation significative de transversions somatiques G:C>T:A dans les gènes impliqués dans la tumorigenèse, tels que le proto-oncogène KRAS, avec un hot spot mutationnel dans le codon 12 de ce dernier : c.34G>T.
Nous rapportons le cas clinique d'une patiente atteinte d'un adénocarcinome digestif à l'âge de 32 ans de présentation atypique. L'histoire clinique a débuté par la survenue d'une péritonite stercorale, avec suspicion d'abcès hépatiques à l'imagerie. Il s'agissait en réalité de métastases hépatiques d'un adénocarcinome d'origine indéterminée. L'exploration coloscopique a permis l'exérèse de trois polypes adénomateux en dysplasie de bas grade de la charnière recto-sigmoïdienne, mais n'a pas pu être complète du fait de l'existence d'une sténose sigmoïdienne non franchissable. Le diagnostic d'adénocarcinome sigmoïdien d'emblée métastatique et révélé par une perforation digestive, a donc été posé.
Les antécédents familiaux n'étaient pas caractéristiques mais le diagnostic de syndrome de Lynch a été évoqué devant l'âge jeune de survenue de la néoplasie colique. L'étude du phénotype tumoral (recherche d'instabilité microsatellitaire et étude de l'expression des protéines MMR en IHC) s'est révélée normale. Le bilan génétique a été ensuite orienté vers l'analyse du gène MUTYH par l'existence de la mutation somatique c.34G>T du gène KRAS étudié sur biopsie hépatique afin d'orienter la thérapeutique. L'analyse du gène MUTYH a mis en évidence chez la patiente une mutation délétère sur chacun des deux allèles du gène : c.[494A>G];[1395_1397delGGA] (NM_001048171.1), permettant de poser le diagnostic de polypose adénomateuse associée au gène MUTYH, dans une forme atypique.
Ce cas clinique souligne d'une part le phénotype clinique très atypique de cette patiente, présentant un cancer sigmoïdien précoce d'emblée métastatique. Il souligne également la démarche diagnostique génétique, l'analyse du gène MUTYH ayant été motivée par la mutation somatique c.34G>T du gène KRAS. Ceci nous amène à discuter les indications d'analyse du gène MUTYH dans les formes atypiques de polypose colo-rectale, ainsi que l'intérêt et la valeur prédictive de l'étude somatique du gène KRAS.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P448 - INDICATIONS DE TEST POUR LE GENE PTEN
INDICATION FOR PTEN GENETIC TESTING

A Remenieras (1), V Bourdon (1), T Noguchi (1), S Olschwang (1), F Eisinger (2), L Huiart (2), H Zattara (3), P Collignon (4), G Plessis (5), L Demange (6), H Dreyfus (7), M Frenay (8), V Mari (8), X Tchicknavorian (9), H Sobol (1)

1. Laboratoire d'Oncogénétique moléculaire, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
2. Service prévention et Dépistage, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
3. Département de génétique médicale, CHU la Timone, Marseille, France
4. Cytogénétique, Hôpital Font-pré, Toulon, France
5. Service de génétique, CHU Clémenceau, Caen, France
6. Unité d'oncologie et radiothérapie, Polyclinique Courlancy, Reims, France
7. Département de génétique et procréation, CHU de Grenoble, Grenoble, France
8. Unité d'oncogénétique, Centre Antoine Lacassagne, Nice, France
9. Unité d'oncogénétique, Hôpital Font-pré, Toulon, France

La maladie de Cowden (OMIM 158350) est due le plus fréquemment à une mutation du gène PTEN (Phosphatase and TENsin homolog) sur le locus 10q23.2 (OMIM 601728). Cette pathologie est caractérisée par des hamartomes multiples se formant sur la peau, la poitrine, la thyroïde, le tractus gastrointestinal, l'endomètre et le cerveau, ainsi que par un risque accru de développer des tumeurs malignes : cancers du sein, de la thyroïde ou de l'endomètre. Le risque de développer un cancer du sein serait compris entre 25 et 50 % avec un âge de diagnostic entre 38 et 46 ans. Le risque de développer un cancer de la thyroïde serait environ de 10 %. L'expressivité variable de la maladie et le caractère souvent peu spécifique des lésions observées rendent son diagnostic difficile et par conséquent les indications de tests génétiques pour PTEN ne sont pas clairement établies.

Comme il n'existe pas de consensus international, le laboratoire d'oncogénétique de l'IPC teste depuis plusieurs années le gène PTEN en 1ere intention dans les tableaux de maladie de Cowden typiques mais aussi en 2ème intention devant un tableau de cancer du sein associé à un cancer de la thyroïde chez les patientes pour lesquelles les analyses des gènes BRCA1 et BRCA2 se sont révélées négatives ou encore devant des tableaux de polyposes.

L'analyse est réalisée par séquençage direct des 9 exons du gène PTEN. La recherche de grands réarrangements est réalisée par MLPA uniquement pour les tableaux de syndromes de Cowden typiques.

Jusqu'à aujourd'hui, 78 familles ont été testées pour le gène PTEN. Trente huit avaient comme porte d'entrée un cancer du sein associé à un cancer de la thyroïde au niveau familial ou individuel, 25 présentaient un tableau typique de maladie de Cowden, 14 présentaient un tableau digestif (polypose) et il y avait 1 tableau de tumeurs primitives multiples.

Pour 70 familles l'analyse s'est révélée négative. Sept mutations ponctuelles ont été identifiées par séquençage. Il s'agit de mutations tronquantes pour 6 d'entre elles et d'une mutation faux sens. Une délétion de l'exon 9 a été mise en évidence par MLPA. Les 8 familles pour lesquelles une mutation délétère du gène PTEN a été identifiée ont toutes été testées devant un syndrome de Cowden classique et non devant l'association cancer du sein / cancer de la thyroïde ou syndrome digestif isolé.

Cette étude indique que le diagnostic de la maladie de Cowden est avant tout clinique et qu'il n'est pas justifié de tester le gène PTEN en 2ème intention après analyses négatives des gènes BRCA1 et 2 chez les familles associant cancer du sein et cancer de la thyroïde ou analyses négatives sur les syndromes digestifs.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P449 - MISE EN EVIDENCE D'UNE T(8;19)(P11.2;Q13) IMPLIQUANT LE GENE MYST3 CHEZ UN NOUVEAU NE PRESENTANT UNE LAM5 CONGENITALE

A Luquain (1), V Roze (2), F Schillinger (3), P Rohrlich (4), E Plouvier (4), MP Algros (5), JL Bresson (1), MA Collonge-Rame (1)

1. Service GB-H-BDR Unité de Génétique et Biologie du Développement, CHU Saint Jacques, Besançon, France
2. Service de GB-H-BDR Unité de Génétique et Biologie du Développement, CHU Saint Jacques, CHU Saint Jacques, Besançon, France
3. EFS, CHU Jean Minjoz, Besançon, France
4. Service de Pédiatrie Massonnat, CHU Saint Jacques, Besançon, France
5. Service d'Anatomie Pathologique, CHU Jean Minjoz, Besançon, France

Les Leucémies aiguës myéloïdes (LAM) congénitales sont extrêmement rares et souvent de type myéloblastique ou monoblastique. Un réarrangement du gène MLL/11q23 est souvent impliqué.
Nous rapportons l'observation d'un nouveau né à terme, de sexe féminin présentant de multiples lésions cutanées bleutées évocatrices d'un « Blueberry Muffin Baby Syndrome ». Le reste de l'examen clinique est normal. L'hémogramme montre une leucopénie (GB = 6,6G/L) avec une légère neutropénie (PNN = 3G/L), sans anomalie des autres lignées. Le myélogramme met en évidence la présence de 10% de grandes cellules blastiques avec images d'hématophagocytose. Le second myélogramme effectué une semaine plus tard confirme le diagnostic de LA monoblastique avec 25% de monoblastes. L'immunophénotypage sur moelle n'est pas contributif. La biopsie des lésions cutanées valide la nature blastique, avec expression des marqueurs monocytaires et myéloïdes CD68, CD4 et MPO.
Le caryotype médullaire, sur 20 mitoses, met en évidence une translocation t(8;19)(p11.2;q13.2) présente dans 8 mitoses sur les 20 analysées. L'hybridation in situ fluorescente (FISH) avec les sondes 11q23(MLL) et 16q22(CBFB) réalisée de manière systématique ne montre pas de réarrangement. L'implication du gène MOZ/MYST3 par la translocation t(8;19)(p11.2;q13.2) est confirmée par FISH à l'aide d'une sonde ciblant ce gène : BAC RP11-313J18.
L'évolution à 5 mois est favorable en l'absence de traitement d'induction. Les leucémides ont totalement disparu et la numération formule est normalisée sans blastes circulants. Le myélogramme réalisé 1 mois après le diagnostic est stable avec 10 % de monoblastes.
Les LAM associées à une translocation impliquant le gène MYST3 sont très rares (

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P450 - CHROMATINE ETIREE: APPROCHE METHODOLOGIQUE ET APPLICATION EN CYTOGENETIQUE MOLECULAIRE
STRETCHED CHROMATIN: METHODOLOGICAL APPROACH AND APPLICATION TO MOLECULAR CYTOGENETICS

D Chassoux (1), M Elkhoury (2), A Aboura (3), F Viguié (4)
1. INSERM U565, Museum National d'Histoire Naturelle, Paris, France
2. Hématologie Biologique lab cytogénétique, Hôpital St Antoine, Paris, France
3. Dept Génétique Médicale, Hôpital R Debré, Paris, France
4. Hématologie Biologique lab Cytogénétique et Université Paris Descartes, Hôpital St Antoine, Paris, France

L'analyse des remaniements chromosomiques constitutionnels ou acquis tels que duplications, inversions ou amplifications, est limitée par le niveau de résolution des techniques cytogénétiques conventionnelles et moléculaires. L'étirement de fibres chromatiniennes par la technique dite de "peignage moléculaire", permet l'analyse FISH en haute résolution sur fibre linéaire. Toutefois cette technique nécessite l'utilisation de cellules fraîches et ne permet pas d'études rétrospectives sur du matériel conservé. Nous avons développé, à partir de culots cytogénétiques conservés dans le fixateur acide/alcool, une technique permettant d'obtenir de tels étirements linéaires.
Les culots sont étalés sur lames propres non traitées, séchées à l'air et plongées verticalement dans la solution de lyse. Plusieurs paramètres ont été testés : durée d'incubation dans le tampon de lyse, durée de conservation des culots avant étalement, étalement sur lame histologique standard ou sur lame ou lamelle « coatée ». Les hybridations in situ sont faites dans des conditions standard. La contre coloration des fibres est effectuée avec le Hoescht 33342 et les préparations sont analysées avec un microscope inversé champs large équipé d'une caméra CCD Roper CoolSnap pilotée par le logiciel METAMORPH.
Sur les étalements contenant des cellules bien séparées, on observe des filaments chromatiniens, non chevauchants d'une cellule à l'autre, en « chevelure » ou « queue de comète », à partir des restes nucléaires. Des hybridations sur lames témoin avec une sonde MLL/11q23 (Vysis, dual color), TCF3/19p13 (Dako, dual color) et des sondes BAC de la région 12p12.1 montrent, dans les meilleures conditions, un signal linéaire dont la taille permet de calculer le facteur d'élongation, qui peut varier largement en fonction du type cellulaire. Des essais sur lymphocytes stimulés par PHA, pour l'analyse d'une duplication 17q constitutionnelle, révèlent un degré très faible d'étirement chromatinien dans des conditions standard. Le marquage des histones H3 caractéristiques de l'hétérochromatine (H3K9me3) montre aussi un marquage différemment distribué entre les cellules, indiquant que le degré variable d'étirement chromatinien semble dépendant du niveau de compaction de la chromatine nucléaire, probablement en relation avec le type cellulaire et le stade de maturation de la cellule. Les cellules en cycle ont aussi été identifiées après pulse de BrdU en fin de culture.
Les résultats préliminaires montrent que les préparations cytogénétiques fixées de façon standard sont utilisables pour l'analyse FISH rétrospective sur fibre chromatinienne étirée. Toutefois il existe encore des difficultés dans le contrôle des différents paramètres impliqués dans l'étirement chromatinien.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P451 - CLONAL CHROMOSOMAL ABERRATION IN FANCONI ANEMIA TUNISIAN PATIENTS: REPORT FROM THE TUNISIAN FANCONI ANEMIA REGISTRY

A AMOURI (1), Y BEN YOUSSEF (2), L KAMMOUN (3), O KILANI (4), Y BEN ABDENNEBI (5), F TALMOUDI (4), N ABDELJELIL (6), S LADAB (6), A LAKHAL (6), M MEDDEB (7), F MELLOULI (8), L TORJMANE (6), S ABDELHAK (9), M ELLOUMI (3), T BEN OTHMAN (6), A SAAD (10), B MEDDEB (5), S HDIJI (11), H SENNANA SENDI (10)

1. Laboratoire de Cytogénétique et Molecular Investigation Of Genetic Orphan Diseases Research Unit (MIGOD) UR 26/04, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
2. Hématologie, Hopital Farhat Hached, Sousse, Tunisie
3. Hématologie, Hopital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
4. Laboratoire de Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
5. Hématologie, Hopital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie
6. Unité de Greffe, Centre National de Greffe de Moelle Osseuse, Tunis, Tunisie
7. Génétique, Laboratoire Privé, Tunis, Tunisie
8. Pédiatrique, CNGMO, Tunis, Tunisie
9. Molecular Investigation Of Genetic Orphan Diseases Research Unit (MIGOD) UR 26/04, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
10. Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Farhat Hached, Sousse, Tunisie
11. Hématologie, Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

Objective:
As chromosomal instability may contribute to leukemic transformation in Fanconi Anemia (FA) patients, we analyzed the cytogenetic data and treatment outcome of FA patients with acute leukaemia in Tunisia.
Methods:
From Janury 1983 to December 2010, 164 consecutive patients with FA were included in the Tunisian Fanconi Anemia Registry (TFAR). Eighteen patients were referred to the two Cytogenetic laboratories of Tunisia. and were eligible for this study. Hemogram data, marrow smears and conventional cytogenetics of bone marrow was reviwed. FISH analysis of bone marrow was studied in some patients.
Results
Among these, 18 (%) presented with clonal aberrations. The mean age at diagnosis of clonal aberrations in BM cells was 10 years (range 2.-30).
The most frequent abnormalities were chromosome 7 abnormalities (monosomy 7 and/or del 7q) and 1q abnormalities. Only 5 patients had received conventional chemotherapy with medullary complete remission in only one case, followed by medullary relapse within 76 months. The overall survival varied from 24 months to 367 months. The median survival from diagnosis of acute leukaemia and death was 9 months (ranged 1-72 months)
Conclusions:
Eleven percent of our patients developed acute leukaemia. Acute myeloid leukaemia is more frequent than acute lymphoblastic leukaemia (ALL).
Because the high risk for MDS/AML of FA patients, we recommend periodical chromosomal analysis. The early stage of leukemic transformation can be difficult to diagnose by morphology alone., therefore, the detection of clonal chromosomal aberrations may be helpful for decision making of stem cell transplantation.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P452 - PROCEDURE D'ANALYSE GENETIQUE RAPIDE ET IMPACT DANS LA PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE DES CANCERS DU SEIN LOCALISES DANS UN CONTEXTE DE SUSPICION DE PREDISPOSITION

O Caron (1), M Guillaud-Bataille (2), A Remenieras (2), B Bressac- de Paillerets (2), S Baert-Desurmont (3), G Bougeard (3), J Tinat (3), T Frébourg (3), C Guillemeau (4), C Bourgier (5), F Rimareix (6), S Delaloge (1)

1. Département de Médecine Oncologique, Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France
2. Laboratoire de Génétique, Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France
3. Service de Génétique moléculaire, CHU, Rouen, France
4. Unité de Psycho oncologie, Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France
5. Département de Radiothérapie, Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France
6. Département de chirurgie, Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France

Les patientes porteuses de mutation constitutionnelle d'un gène BRCA1/2 ou TP53 qui ont déjà développé un premier cancer du sein ont un haut risque de second cancer du sein. En conséquence, la présence d'une mutation pourrait influencer la stratégie thérapeutique en orientant notamment vers une chirurgie non conservatrice. Nous proposons une procédure rapide d'analyse génétique aux femmes ayant eu un diagnostic récent de cancer du sein et dont la probabilité d'être porteuse d'une mutation constitutionnelle est haute (>20%). Méthodes: Entre le 02/05/2009 et le 01/03/2011, 61 patientes présentant un cancer du sein localisé nécessitant une chimiothérapie adjuvante ou néo-adjuvante et dont l'histoire personnelle ou familiale satisfaisait les critères d'analyse de BRCA1/2 ou TP53 ont été vues en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) de sénologie à l'Institut Gustave Roussy puis adressées en consultation de génétique. Un test génétique était réalisé après information sur les conséquences des résultats et obtention d'un consentement éclairé. Notamment, les patientes étaient prévenues d'un éventuellement changement dans la stratégie thérapeutique. Un délai de réflexion et un support psychologique à chaque étape de la procédure était proposé. Les résultats étaient communiqués au patient en premier lieu puis discutés au cours d'une seconde RCP de sénologie, au cours de laquelle le schéma thérapeutique initial était éventuellement changé. Nous avons évalué de manière rétrospective l'impact psychologique de cette procédure par un questionnaire envoyé par courrier. Résultats: Toutes les femmes adressées en consultation de génétique dans ce contexte ont accepté l'analyse, certaines après un délai de réflexion. L'âge moyen au diagnostic était 38 ans [26-55]. L'ensemble de la procédure, de la proposition du test à la restitution du résultat, était réalisée dans un délai moyen de 99 jours [19-245]. Une patiente n'a jamais pris connaissance de ses résultats. Une mutation délétère a été identifiée chez 18 patientes (30%) : 13 BRCA1, 4 BRCA2, 1 TP53. Dans 18 cas, une mastectomie du sein atteint a été proposée aux patientes porteuses de mutation. 5 patientes ont refusé le changement de stratégie, 4 ont demandé en plus une mastectomie controlatérale (3 mutations délétères et un variant de signification inconnu mais suspect). Une radiothérapie a été annulée chez une porteuse de mutation de TP53. 76% des femmes contactées ont rempli le questionnaire psychologique. L'exploitation de ces questionnaires est actuellement en cours et les résultats seront disponibles au moment du congrès. Conclusion : ces données montrent que les résultats des tests génétiques constitutionnels peuvent apporter des arguments pour une décision thérapeutique. La présence d'une prédisposition influence le plus fréquemment le traitement chirurgical, mais dans 5/18 cas (soit 27%), les patientes ont refusé les changements de stratégie.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P453 - LE TRANSCRIT TEL-AML1 EST RAREMENT RETROUVE DANS LES LEUCEMIES AIGUES LYMPHOBLASTIQUES EN TUNISIE
TEL-AML1 IS INFREQUENT IN ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA OF TUNISIAN PATIENTS

S Menif (1), R Jeddi (2), S Abdennebi (3), S Hdiji (4), M Medhaffer (3), M Elloumi (3), H Ben ABID (3), B Meddeb (3)

1. Laboratoire hématologie moléculaire et cellulaire institut Pasteur de Tunis, faculté de médecine de Tunis université Tunis el Manar, Tunis, Tunisie
2. Service hématologie, Hopital aziza Othmana, Tunis, Tunisie
3. Service hématologie, Hopital aziza Othmana Tunis, Tunis, Tunisie
4. Service hématologie, Hopital aziza Othmana Tunis, tunis, Tunisie

La leucémie aigue lymphoblastique (LAL) est la maladie maligne la plus fréquente à l'âge pédiatrique, elle résulte d'une prolifération incontrôlée de lymphoblastes qui envahissent la moelle osseuse, le sang et d'autres organes. Différents facteurs pronostiques sont actuellement établis pour la stratification thérapeutique des malades, la présence du transcrit Tel-AML1 issu de la t(12 ;21) confère un pronostic favorable a cette hémopathie et est retrouvé chez environ 25% des malades. ce travail a pour but d'estimer la fréquence de ce transcrit chez les malades tunisiens.

140 malades tunisiens atteints de LAL ont été inclus dans cette étude. L'âge moyen est de 18 ans (1- 56), a partir d'échantillons de sang ou de moelle recueillis chez ces patients au diagnostic une extraction d'ARN suivie d'une retro-transcription a permis d'obtenir de l'ADNc sur cet ADNc une PCR utilisant les amorces spécifiques permet de mettre en évidence ce transcrit qui est visualisé après électrophorèse sur gel d'agarose.

10 patients sur 140 ont été trouvés positifs soit 7% ces résultats sont très en deçà des résultats rapportés en occident .des facteurs ethniques ou environnementaux sont très probablement à l' origine de ces différences. Plusieurs facteurs en particulier viraux sont incriminés dans l'etipathogenie des LAL, une étude similaire a permis de mettre en évidence la faible prévalence de ce transcrit chez les espagnols .Ces résultats confirment l'hétérogénéité des leucémies aigues lymphoblastiques et renforce l'hypothèse des facteurs environnementaux dans la survenue de cette hémopathie.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P454 - STRATEGIE D'IDENTIFICATION DE NOUVELLES MUTATIONS RESPONSABLES DU SYNDROME DE LYNCH PAR SEQUENÇAGE NOUVELLE GENERATION

M Figeac (1), S Lejeune (2), F Leprêtre (1), P Vermeulen (1), V Nicolas (2), J Leclerc (3), S Manouvrier (2), N Porchet (3), MP Buisine (3)

1. Plateforme de Génomique fonctionnelle et structurale, Université de Lille 2, IFR-114, IRCL, Lille, France
2. Service de Génétique Clinique, CHRU de Lille, Lille, France
3. Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Oncologie et Génétique Moléculaires, CHRU de Lille, Lille, France

Le syndrome de Lynch est la principale cause de cancer héréditaire colorectal et endométrial. Il est dû à une mutation constitutionnelle survenant dans l'un des gènes de réparation des mésappariements de l'ADN (gènes MMR) : MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2. L'identification de la mutation responsable de ce syndrome est primordiale, permettant de proposer un test génétique dans la famille afin de préciser les risques tumoraux et d'adapter la prise en charge. Or, malgré les progrès des techniques d'analyses (analyse de la méthylation du promoteur des gènes, recherche de réarrangements par MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification), QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fragments) ou CGH-array (array-Comparative Genomic Hybridization)), il reste certaines familles pour lesquelles l'anomalie génétique responsable du syndrome familial n'a pu être identifiée.

Notre étude a consisté à utiliser une technologie de séquençage nouvelle génération (SOLiD, Life Technologies) pour rechercher de nouvelles mutations responsables du syndrome de Lynch.

L'étude a porté sur 15 individus : 11 patients atteints d'un syndrome de Lynch et 3 apparentés non atteints, issus de 10 familles sans mutation délétère identifiée, sélectionnées sur la base d'un phénotype tumoral associant instabilité microsatellitaire et perte d'expression en immunohistochimie des protéines MSH2 et/ou MSH6 ; 1 patient contrôle porteur d'une mutation délétère du gène MSH2. Une région de 536 kb comprenant les gènes MSH2 et MSH6 a été séquencée à l'aide du SOLiD3 system (Life Technologies).

L'analyse des premières données a permis d'identifier 200 SNV (Single Nucleotide Variations) et 43 delins (délétions-insertions). Les résultats de l'étude haplotypique réalisée sur les différentes familles nous a amenés à focaliser nos analyses sur deux d'entre-elles pour lesquelles un effet fondateur a été mis en évidence. L'absence de SNV commun aux deux familles (3 patients) parmi les 200 sélectionnés nous a amenés à revoir notre analyse en élargissant les filtres. 38 SNV d'intérêt potentiel ont ainsi été sélectionnés et font actuellement l'objet d'une validation par séquençage classique.

Outre l'identification de nouvelles altérations responsable du syndrome de Lynch, cette étude devrait nous permettre d'optimiser les stratégies d'analyse basées sur l'utilisation du séquençage nouvelle génération.

Soutiens financiers : Université de Lille 2 (PV) et GEFLUC (Groupement d'Entreprises Françaises dans la Lutte contre le Cancer)

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P455 - SURVENUE D'UNE LEUCEMIE AIGUË LYMPHOBLASTIQUE T 9 ANS APRES UNE LEUCEMIE AIGUË MYELOÏDE DE L'ENFANT : LINEAGE SWITCH OU CELLULE SOUCHE COMMUNE ?

G Fouquet (1), S Tricot (2), C Roumier (3), N Grardel (3), A Renneville (3), M Simon (2), J Fernandes (2), O Theisen (4), P Duthilleul (4), A Daudignon (5), S Poulain (4)

1. Service d Hématologie Clinique, CH de Valenciennes, VALENCIENNES, France
2. Service d'Hématologie Clinique, CH de Valenciennes, VALENCIENNES, France
3. Laboratoire d'Hématologie, CHRU de Lille, LILLE, France
4. Service d'Hématologie Immunologie Cytogénétique, CH de Valenciennes, VALENCIENNES, France
5. Service d'Hématologie Immunologie, CH de Valenciennes, VALENCIENNES, France

Introduction : Les cas de lineage switch en leucémie aigue lymphoblastique T (LALT) après leucémie aiguë myéloïde (LAM) sont exceptionnellement décrits. Nous rapportons ici le cas d'un patient (pt) traité pour une LAM 0 à l'âge de 13 ans, présentant 9 ans plus tard une LALT.

Présentation du cas : En 2001, le pt âgé de 13 ans ayant une malformation congénitale de l'appareil urogénital avec rein unique est hospitalisé pour pyélonéphrite avec altération de l'état général. La numération formule sanguine (NFS) montre une leucopénie à 2 790 /mm3 avec présence de 6% de blastes, une anémie à 9,4 g/dL et des plaquettes à 275 000 /mm3. Au myélogramme, une infiltration par 59% de blastes associée à une dysgranulopoièse et une dysérythropoièse est observée. La réaction à la myélopéroxydase est négative. L'immunophénotypage (IP) met en évidence des marqueurs myéloïdes (CD13, CD33) et lymphoïdes T (CD3 négatif, CD2 faible, CD7). Le diagnostic de LAM0 est posé. La caryotype est le suivant : 88-89, XXYY [4n], -4, -5, -16,-17 [10]/ 46, XY[10]. Des réarrangements des gènes γ et δ des récepteurs T (TCR) sont détectés en biologie moléculaire (BM). Après traitement selon le protocole LAME 2001, une rémission complète est obtenue.

En décembre 2010, le pt présente une altération de l'état général avec douleurs osseuses. La NFS retrouve une hyperleucocytose à 111 370/mm3 avec 78 % de blastes, une anémie à 11,7 g/dL et thrombopénie à 39000/mm3. Le myélogramme montre une infiltration par 95% de blastes de morphologie lymphoïde. La réaction à la myélopéroxydase est négative. L'IP retrouve des marqueurs lymphoides T (CD2, CD3, CD7) et myéloïdes (CD 13, CD33). Le diagnostic de LALT est posé. Le caryotype est le suivant : 46, XY, del(12)(p11) [3]/ 46, XY[12].Une analyse par FISH révèle une délétion bi-allélique du gène TEL et une délétion mono-allélique du gène AML1. Le même réarrangement du TCR qu'au diagnostic de LAM est détecté. Aucune mutation d'AML1 n'est observée. Malgré le traitement selon le protocole GRAALL 2005, les marqueurs de maladie résiduelle restent positifs. L'indication d'allogreffe n'a pu être retenue devant l'état général du patient.

En septembre 2011, survient une reprise évolutive de la LAL sous forme hyperleucocytaire. L'IP est comparable au diagnostic. La BM retrouve les mêmes réarrangements du TCR et l'absence de mutation d'AML1. La caryotype est un échec. La FISH retrouve la délétion bi-allélique du gène TEL et la délétion mono-allélique du gène AML1. Le pt est décédé lors de l'hospitalisation.

En conclusion, la survenue d'une LALT chez un patient 9 ans après une LAM0 suggère, dans ce cas, la survenue d'un deuxième LA issue d'une cellule « souche » leucémique présentant le même réarrangement du TCR.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P456 - MICRODELETION 9Q22.3: UN NOUVEAU SYNDROME MICRODELETIONNEL PREDISPOSANT AU NEPHROBLASTOME?

B Isidor (1), F Bourdeaut (2), D Martin-Coignard (3), G Plessis (4), O Pichon (5), A Briand (6), c Kannengiesser (7), S Rossignol (8), A David (9), O Delattre (10), C Le Caignec (5)

1. Service de Génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. Oncologie Pédiatrique, institut Curie, Paris, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU Le Mans, Le Mans, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU Caen, Caen, France
5. Service de Cytogénétique, CHU Nantes, Nantes, France
6. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
7. Biologie Moléculaire, Hôpital Bichat, Paris, France
8. Biologie Moléculaire, Hôpital Trousseau, Paris, France
9. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
10. Biologie Moléculaire, institut Curie, Paris, France

Le néphroblastome est la tumeur rénale la plus fréquente de l'enfant. Plusieurs syndromes comportent un risque accru de développement de ce type de tumeur, notamment des syndromes avec croissance excessive comme ceux de Perlman et Wiedmann-Beckwith. Cependant, si plusieurs gènes de prédisposition ont été identifiés, la cause reste inconnue dans encore la majorité des cas.

Nous rapportons ici 3 enfants porteurs d'une microdélétion constitutionnelle au locus 9q22.3 ayant développé un néphroblastome uni ou bilatéral. La région minimale commune à ces 3 délétions comprend les gènes PTCH1 et FANCC. Nous avons également mis en évidence une mutation du gène PTCH1 au niveau de la tumeur chez un de ces patients. Ainsi, nous proposons que cette microdélétion 9q22.3, comprenant les gènes PTCH1 et FANCC, soit considérée comme une entité prédisposant au néphroblastome.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P457 - ANOMALIES GENETIQUES ET EPIGENETIQUES DE DLEU7 DANS LA MALADIE DE WALDENSTROM

S Poulain (1), C Roumier (2), A Lainelle (1), A Decambron (1), C Herbaux (3), S Tricot (4), S Galiegue Zouitina (5), P Duthilleul (1), A Daudignon (6), X Leleu (7)

1. Service d'Hématologie Immunologie Cytogénétique, CH de Valenciennes, VALENCIENNES, France
2. Laboratoire d'Hématologie, CHRU de Lille, LILLE, France
3. Service d'Hématologie Immunologie Cytognénétique, CH de Valenciennes, VALENCIENNES, France
4. Service d'Hématologie Clinique, CH de Valenciennes, VALENCIENNES, France
5. U837, IRCL, LILLE, France
6. Service d'Hématologie Immunologie, CH de Valenciennes, VALENCIENNES, France
7. U 837/ Service des Maladies du Sang, IRCL/ CHRU de Lille, Lille, France

Introduction : La maladie de Waldenstrom (MW) est une hémopathie lymphoide B rare définie par la présence d'un pic monoclonal de type IgM et une infiltration lymphoplasmocytaire médullaire. Sa physiopathologie demeure mal connue. Une activation constitutive de différentes voies de signalisation telles que NFKB a été décrite. Le gène DLEU7, un régulateur négatif de la voie NFBK, est localisé dans la région minimale délétée en 13q14 dans la MW. Le gène DLEU7 possède plusieurs ilôts CpG dont l'hyperméthylation a été associée à une diminution de l'expression du transcrit DLEU7 qui contribuerait à l'activation constitutive de la voie NFKB. Notre objectif a été d'explorer les anomalies génétiques et épigénétique de DLEU 7 dans la MW.

Matériel et Méthode : 50 patients atteints de MW et 2 lignées cellulaires de type MW (BCWM1 et MWCL1) ont été étudiées. L'ADN a été extrait après sélection négative des cellules B CD19+ isolées de la moelle osseuse. Chez 32 pts, un couple d'échantillons homologues (cellules B tumorales / lymphocytes T, isolés du sang) a été utilisé pour caractériser les anomalies somatiques acquises par puce Genome-Wide Human SNP Array 6.0 (Affymetrix chips). Le nombre de copies de DLEU7 a été déterminé par technique de PCR en temps réel (kits Copy Number ciblant DLEU7 et le gène de référence, RNaseP (Applied Biosystems)). Le statut de méthylation des ilots CpG du promoteur DLEU7 a été étudié par technique COBRA (Combined Bisulfite Restriction Analysis).

Résultats : Une délétion de DLEU7 a été détectée chez 4/40 patients (10%) en PCR temps réel. Par puces à SNP (n=32), deux cas de délétion monoallélique et un cas de délétion homozygote de DLEU7 ont été identifiés et confirmés par PCR en temps réel. Aucune disomie uniparentale acquise de DLEU7 n'a été mise en évidence. Aucune délétion de DLEU7 n'a été observée dans les lignées MCWM1 et BCWM1. En revanche, une méthylation complète du gène DLEU7 est mise en évidence dans MWCL1 et BCWM1. Le profil de méthylation du gène DLEU7 a été étudié chez 13 patients. Une méthylation partielle est observée dans tous les cas.

Conclusion : Les délétions de DLEU7 constitue un événement peu fréquent dans les MW. En revanche, une méthylation du gène DLEU7 est observée chez les WM. Un processus de régulation épigénétique de DLEU7 pourrait donc contribuer à dérégulation de la voie NFKB constitutionnellement activée dans la MW.

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P458 - ETUDES DES GENES BRCA EN MARTINIQUE, BILAN DE 5 ANNEES DE CONSULTATIONS.
MUTATIONS IN THE BRCA GENES IN MARTINIQUE, 5 YEARS'RESULTS OF THE ONCOGENETIC COUNSELING.

O BERA (1), A ROUSSELIN (2), A LEGROS (2), G TOSSEN (3), S KRIEGER (2), D VAUR (2), A HARDOUIN (2)
1. Unité d'Oncogénétique Pole Cancérologie-Hematologie, CHU de Fort de France, Fort de France, France
2. Laboratoire de Biologie clinique et Oncologique, CRLCC François Baclesse, Caen, France
3. Oncologie, CHU de Fort de France, Fort de France, France

La Martinique, département Français d'Amérique, située à 7000 kms de la France Hexagonale, fait partie des petites Antilles. Sa population façonnée par l'histoire est composée majoritairement des descendants métissés d'esclaves noirs africains et de colons français.
De janvier 2006, date de la création de l'unité d'oncogénétique à mars 2011, 923 consultations ont été réalisées en Martinique et en Guyane pour 378 familles. Elles représentent 64% de l'ensemble des consultations justifiant une analyse moléculaire des gènes BRCA1/2 pour 152 familles. Dans 1/3 des cas, le motif de consultation était un cancer du sein isolé survenu entre 27 et 39 ans.
Le criblage, réalisé par le laboratoire de Biologie Clinique et Oncologique du Centre François Baclesse de Caen, a été effectué par DHPLC sur ADN génomique extrait à partir du sang, suivi de séquençage et d'une étude systématique des réarrangements de grande taille pour les 2 gènes par les techniques MLPA et/ou QMPSF. Pour les 139 familles originaires de la Caraibe, l'analyse a mis en évidence 12 mutations délétères dans les gènes BRCA, soit seulement 8.6% (9 mutations dans le gène BRCA1 et 3 dans le gène BRCA2).
3 mutations BRCA1 sont identiques et mises en évidence dans des familles sans aucun lien de parenté apparent. L'analyse à l'aide de 9 microsatellites sur une distance de 3.7 cM révèle un haplotype commun aux 3 familles, en faveur d'un effet fondateur.
Par ailleurs, 4 mutations sont de nouvelles mutations jusqu'alors jamais décrites dont un réarrangement de grande taille correspondant à l'état hétérozygote, à une délétion de 8500 pb ayant emporté les deux premiers exons du gène NBR2 et 22 exons du gène BRCA1.
De part son origine géographique différente, cette population nous a apporté des informations essentielles à la classification de nombreux variants de signification inconnue des gènes BRCA. Par exemple, 13 variants inclassés dans la base UMD française ont pu être étiquetés neutres de par leur fréquence dans la population antillaise. Un variant reste toutefois présent chez un peu moins de la moitié des patients. Il est tout à fait possible que certains variants de signification inconnue soient d'authentiques mutations délétères, sachant qu'à ce jour, les études complémentaires réalisées n'ont pas retrouvé d'anomalie de l'épissage.
Conclusion
La surreprésentation des variants inclassés contraste avec le pourcentage de mutations délétères (8,6%) retrouvé dans la population martiniquaise, plus faible que celui décrit dans l'hexagone. Des éléments d'explication seront peut être apportés par l'étude portant sur la caractérisation des carcinomes infiltrants du sein en Martinique. Des résultats plus proches de ceux décrits chez la femme afro-américaine (âge de survenue plus jeune, agressivité plus élevée des tumeurs souvent triples zéro, en particulier basal-like) sont attendus faisant évoquer l'intervention d'autres facteurs génétiques que les gènes BRCA.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P459 - ETUDE DU RETENTISSEMENT SUR L'EPISSAGE DE VARIANTS DE SIGNIFICATION INCONNUE DU GENE PTEN ET EVALUATION DE DIVERS LOGICIELS DE PREDICTION DE SITES D'EPISSAGE.

D Lafon (1), B Gastaldello (2), V Bubien (2), E Barouk (2), N Sevenet (2), M Longy (2), F Bonnet (3)

1. Service de Génétique Constitutionnelle- Inserm U916, Institut Bergonié, Bordeaux Cedex, France
2. Service de Génétique Constitutionnelle- INSERM U916, Institut Bergonié, Bordeaux Cedex, France
3. Service de génétique Constitutionnelle, Institut Bergonié, Bordeaux Cedex, France

Le diagnostic moléculaire des maladies génétiques est souvent difficile du fait du nombre élevé de mutations identifiées dont le caractère délétère ne peut être affirmé en se fondant uniquement sur le criblage de l'ADN. Un certain nombre de ces variants génomiques de signification biologique inconnue (VSI) sont pourtant des mutations délétères responsables d'un défaut d'épissage. Nous présentons les résultats du criblage in vitro par RT-PCR de 13 VSI du gène PTEN (Phosphatase and TENsin homologue), gène responsable de la maladie de Cowden ou des syndromes apparentés. Des amorces spécifiques du gène PTEN ont été sélectionnées afin d'éviter la détection du transcrit du pseudogène PTEN1 qui présente 98.6% d'homologie avec le cDNA du gène PTEN. L'analyse a été réalisée à partir de lymphocytes activés à la PHA cultivés en présence de puromycine afin d'inhiber le NMD (Nonsense mediated mRNA Decay) ou de leucocytes isolés à partir de prélèvement sanguin sur tube PAXgene. La nature du retentissement sur l'épissage a été déterminée par séquençage des produits de RT-PCR. Les données de criblage in vitro ont été ensuite comparées aux résultats du criblage in silico reposant sur l'utilisation de 5 logiciels de prédiction de sites d'épissage : SpliceSiteFinder (SSF), MaxEntScan (MES), NNSPLICE (Neural Network Splicing ; NNS), GeneSplicer(GS) et HumanSpliceSiteFinder (HSF).

Sept des 13 VSI étudiés sont localisés à proximité des sites consensus AG/GT: 6 VSI situés au voisinage d'un site donneur d'épissage (SD ; des positions –1 à +7) et 1 VSI proche d'un site accepteur d'épissage (SA ; en position -3). Cinq VSI sont situés à distance de ces sites canoniques (des positions –14 à + 121) et 1 VSI est présent dans la région 3'UTR du gène PTEN. Cinq mutations d'épissage ont été identifiées, localisées au voisinage d'un SD (3VSI/6 ; positions +2 à +7), proche d'un SA (1VSI/1 ; en position -3) et à distance d'un site d'épissage (1 VSI/5 : en position -14). Leur retentissement sur l'épissage est total et résulte d'une délétion de l'exon portant la mutation ou de l'activation d'un site cryptique. Ces mutations d'épissage ont toutes été prédites par MES et seulement 3 d'entre elles par SSF, NNS et HSF. Concernant 3 autres variants génomiques touchant un SD et considérés donc de facto comme pathogènes, le criblage in vitro n'a pas permis de préciser leur effet sur l'épissage ou celui-ci était partiel. Dans 2 cas , l'exploration de l'intron a permis de mettre en évidence l'activation d'un site cryptique très profond et donc non détectable par les tests fonctionnels in vitro ou ex vivo usuels. Ces résultats seront présentés, et confrontés à ceux des analyses in silico. Leur impact sur la stratégie de criblage des VSI sera discuté.

We are grateful to genetic consellors or clinicians who addressed blood samples for mutation screening: Dr V. Drouin-Garraud (CHU Rouen) ; Pr P.S. Jouk (CHU Grenoble), Dr O. Ingster (CH Angers); Pr P. Edery (Hop Debrousse Lyon) ; Dr A. Philippe

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P460 - DETERMINATION D'INSTABILITE MICROSATELLITAIRE DANS LES TUMEURS DU CANCER COLORECTAL (CCR) PAR IMMUNOHISTOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE. EXPERIENCE DU CHU HASSAN II DE FES « MAROC »

RA Amarti (1), S Bennis (2), A boulouz (3), L Chbani (4), K Ouldim (5), M Sekkal (1)
1. Laboratoire d'anatomo-pathologie, CHU Hassan II, fès, Maroc
2. Laboratoire de biologie des cancers, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès, fès, Maroc
3. 1. Laboratoire de Neuroendocrinologie et Environnement Nutritionnel et Climatique, Faculté des sciences Dhar Marhaz, fès, Maroc
4. Laboratoire d'anatomo-pathologie, CHU Hassan II, fès, Maroc
5. Unité de génétique médicale d'oncogénétique, CHU Hassan II, fès, Maroc

Résumé : 15% des CCR sont dues à une instabilité microsatellitaire (MSI) qui est liée à une mutation des gènes de réparation des mésappariements de bases (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) codant pour des protéines de réparation des erreurs de réplication d'ADN.
Le but de cette étude est d'identifier l'instabilité microsatellitaitre dans les cancers colorectaux colligés dans le CHU Hassan II par les méthodes immunohistochimique et biologie moléculaire.

Matériel et méthodes : Il s'agit d'une étude prospective, descriptive et analytique des patients ayant un CCR depuis Janvier 2010 et n'ayant pas reçu de thérapeutique néo adjuvante
4 anticorps (MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2) ont été utilisés pour vérifier l'extinction du marquage nucléaire, puis une confirmation avec amplification des locis microsatellites par polymérase des réactions en chaine (PCR) et une analyse de fragments ont été également réalisées pour les cas qui présentent une vraie extinction du marquage.

Résultats : 120 patients ont été inclus dans l'étude dont l'âge médian est de 57 ans avec des extrêmes de 22 ans et de 84 ans. 57% des patients sont de sexe masculin et 43% sont de sexe féminin. 52,9% des cas présentent une localisation au niveau du colon, alors que 47,1% ont une localisation rectale. Pour le type histologique, on note la présence des cas à composante mucineuse. Par contre, aucun de nos cas ne présente une composante à cellules indépendantes.
L'étude immunohistochimique a révélé une extinction de marquage des protéines de réparation d'ADN uniquement dans 7% des cas, avec un seul cas qui présente le syndrome HNPCC. Alors que l'étude par biologie moléculaire (PCR) a montré la présence du MSI dans 12% des cas.

Conclusion : La recherche de l'instabilité microsatellitaire dans les tumeurs du cancer colorectal doit impérativement être confirmée par biologie moléculaire, puisque la technique d'immunohistochimie reste très sensible et à faible reproductibilité.

Mots clefs : instabilité microsatellitaire, cancer colorectal, PCR

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P461 - LA GENOMIQUE ET L'ELIGIBILITE A UNE THERAPEUTIQUE CIBLEE : EVALUATION DU STATUT HER2 PAR HYBRIDATION IN SITU EN FLUORESCENCE DANS LE CANCER DU SEIN.

F Abbass (1), A Amarti (2), S Bennis (3), L Chbani (4), H Elfatmi (5), N Senhaji (6)
1. Laboratoire des molécules bioactive, Faculté des Sciences et Techniques de Fès, fès, Maroc
2. Laboratoire d'anatomo-pathologie, CHU Hassan II, fès, Maroc
3. Laboratoire de biologie des cancers, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès, fès, Maroc
4. Laboratoire d'anatomo-pathologie, CHU Hassan II, fès, Maroc
5. 5. Laboratoire d'anatomo-pathologie, CHU Hassan II, Fès, Maroc
6. Faculté des sciences Dhar Marhaz, Faculté des sciences Dhar Marhaz, fès, Maroc

L'amplification du gène HER2, localisé sur le chromosome 17, en 17q21.1, est retrouvée dans environ 20 % des cancers du sein. L'identification d'amplification de ce gène est indispensable pour la détermination de l'éligibilité des patientes atteintes d'un cancer du sein à une thérapeutique ciblée par Trastuzumab. Le but de cette étude est l'identification d'aberrations génétiques du gène HER2 par technique FISH pour les patientes dont les tumeurs sont diagnostiquées Her2 2+ par immunohistochimie.

Patientes et méthodes : Une étude prospective, descriptive, étalée sur une année, a été réalisée à l'unité d'oncogénétique du CHU Hassan II à Fès (Maroc). Les résultats préliminaires ont porté sur 54 patientes atteintes de cancer du sein ayant un statut Her2 (2+) douteux.

Résultats : L'âge moyen de nos patientes était de 47 ans. 54 patientes atteintes de cancer du sein avec un statut HER2 douteux, déterminé par immunohistochimie, ont nécessité une confirmation de leur statut par FISH. L'amplification du gène HER2 est retrouvée dans 26% des cas et donc cette proportion des patientes pourront bénéficier d'un traitement par Trastuzumab. Par ailleurs, 67% des cas n'ont pas révélé d'amplification. Cette étude a montré que dans 7% des cas étaient ininterprétables.

Conclusion : L'évaluation du statut Her2 par FISH est nécessaire pour trancher dans les cas HER2 douteux diagnostiqués par immunohistochimie. Cette étude préliminaire montre l'importance de mettre en place une plate forme pour FISH avec des programmes de contrôle et d'assurance de qualité pour améliorer les analyses. Cela permettrait la réalisation en routine de ces tests et, de ce fait, une amélioration de la prise en charge des patientes.
Mots clefs : FISH, Amplification HER2, cancer sein, trastuzumab.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P462 - PARKIN INACTIVATION PLAYS AN IMPORTANT ROLE IN MELANOCYTE ONCOGENESIS AND PREDISPOSES TO CUTANEOUS MELANOMA

HH HU (1), S LESAGE (2), S MOURAH (3), L MICHEL (1), V DESCAMPS (4), C LEBBE (5), N BASSET-SEGUIN (6), M BAGOT (6), A BENSUSSAN (7), L DESCHAMPS (8), MT LECCIA (9), A TSALAMLAL (10), S KLEBE (2), C KANNENGIESSER (10), B GRANDCHAMP (10), N DUMAZ (1), T LUC (11), A BRICE (2), N SOUFIR (10)

1. Université Paris 7, Inserm U976, Centre de Recherche sur la Peau, Hôpital Saint Louis, Paris, France
2. Université Paris 6, Inserm UMR_S975, Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Inserm U940, Laboratoire de Pharmacologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France
4. Service de Dermatologie, Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris, France
5. Service de Dermatologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France
6. Université Paris 7, Inserm U976, Centre de Recherche sur la Peau, Service de Dermatologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France
7. Université Paris 7, Inserm U976, Centre de Recherche sur la Peau, Service de Dermatologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France
8. Université Paris 7, Inserm CRB3, Département de Pathologie, Hôpital Beaujon, Paris, France
9. Service de Dermatologie, CHU Grenoble, Grenoble, France
10. Laboratoire de Biochimie Hormonale et Génétique, Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris, France
11. Service de Dermatologie, Hôpital de l'Hôtel-Dieu, Lyon, France

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder characterized by a loss of melanin-positive dopaminergic neurons in the substantia nigra. At least eight major predisposing genes have been implicated in early onset and/or familial forms of PD. Cutaneous melanoma (CM) is a skin malignant tumor arising from melanocytes. There is epidemiological evidence that CM occurs with a higher-than-expected frequency in PD subjects, and that CM patients are more likely to develop PD. PARK2 encodes an E3 ubiquitin ligase involving in cyclin E degradation. In addition to its role on PD, PARK2 has also been shown to be an important tumor suppressor gene. We therefore investigated its impact on CM susceptibility and CM oncogenesis.

PARK2 coding regions were sequenced in 370 CM patients recruited from oncogenetic survey and that matched one of following criteria: familial CM, multiple CM and CM under 25 years old, and in 16 melanoma cell lines. The functional effect of PARK2 mutations was evaluated by in silico prediction tools. In addition, the presence of CNV in PARK2 was investigated by MLPA and qPCR in 370 CM patients, 25 melanoma cell lines and 37 primary tumors. Point mutation and CNV frequencies was obtained for 2060 healthy controls derived from ten publications in which PARK2 has been sequenced and analyzed for CNVs. Statistical analysis was carried out by comparing PARK2 abnormalities between patients and controls.

We identified 2 splicing (c.8-14A>G and c.8-1delG) and 5 rare missense deleterious mutations, that have been previously identified in PD patients, in 11 CM patients (3%). The frequency of these mutations was 1.7% in controls (P=0.16; OR=1.69 [0.81-3.46]). PARK2 CNVs were identified in 7 (1.9%) patients in exons 2, 4, 8, 9, 10, and 11 versus 8 (0.4%) in 2060 controls (P=0.004; OR=4.95 [1.61-15.08]). Importantly, PARK2 CNVs were mostly clustered in RING1, IBR and RING2 domains of PARKIN which are essential for ubiquitin ligase's function. Collectively, deleterious mutations or CNVs in PARK2 were present in 4.9% of CM patients versus 2.1% in controls (P=0.006, OR= 2.34 [1.29-4.23]). Interestingly, PD cases were retrospectively identified in 2/17 melanoma families harboring a PARK2 mutation, either in the index case or at least one of their first degree relatives. Finally, PARK2 CNVs were present in 76% of melanoma cell lines and in 60% of primary tumors.

Our results show that, in addition to predispose to PD, PARK2 inactivating mutations also play an important role in melanoma predisposition and in melanoma oncogenesis, comforting the role as PARK2 as an important tumor suppressor gene. Therefore, we point out a common genetic pathway in PD and CM that could explain the epidemiological association between both diseases. These results may have clinical implications in PD patients mutated for PARK2 (skin

examination and photo-protection). This also provides new insights in CM oncogenesis that could be helpful for targeted therapy design.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P463 - ETUDE DE TMEM127, NOUVEAU GENE DE SUSCEPTIBILITE AU PHEOCHROMOCYTOME, AU SEIN D'UNE COHORTE FRANÇAISE. TMEM127 SCREENING IN A LARGE COHORT OF PATIENTS WITH PHEOCHROMOCYTOMA AND OR PARAGANGLIOMA.

N Abermil (1), M Guillaud-Bataille (1), N Burnichon (1), A Venisse (1), P Manivet (2), L Guignat (3), D Drui (4), M Chupin (5), C Josseaume (6), H Affres (7), PF Plouin (8), J Bertherat (3), X Jeunemaître (1), AP Gimenez-Roqueplo (1)

1. Département de Génétique, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
2. Service de Biochimie et de Biologie moléculaire, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Lariboisière, Paris, France
3. Service des Maladies Endocriniennes et Métaboliques, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Groupe Cochin-Saint Vincent de Paul, Paris, France
4. Service d'Endocrinologie, Centre Hospitalier Universitaire de Nantes, Nantes, France
5. Endocrinologie, Nantes, Nantes, France
6. Service d'Endocrinologie et Diabétologie, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, Rennes, France
7. Service d'Endocrinologie et des Maladies de la Reproduction, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Centre Hospitalier Universitaire du Kremlin-Bicêtre, Kremlin Bicêtre, France
8. Service de Médecine Vasculaire et d'HTA, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

Contexte

Les phéochromocytomes (PH) et paragangliomes (PGL) sont des tumeurs dérivées des tissus nerveux sympathique et parasympathique, affectant respectivement les surrénales et les paraganglions. 30% de ces tumeurs neuro-endocrines sont héréditaires, avec comme principaux gènes de prédisposition les gènes VHL, RET, NF1, SDHB, SDHD et SDHC. Une étude récente a permis l'identification d'un nouveau gène, TMEM127. Notre objectif a été de préciser les caractéristiques cliniques des patients mutés ainsi que la prévalence des mutations de ce nouveau gène.

Patients et Méthodes

Les analyses de TMEM127 ont été menées sur une cohorte de 642 patients. 559 patients présentaient un PH dont 38 d'entre eux un PH bilatéral, 72 patients avaient un PGL et 11 patients étaient atteints de ces deux types de tumeurs. Pour tous ces patients, aucune anomalie n'a été retrouvée sur les gènes VHL, RET, SDHB, SDHC, SDHD et une neurofibromatose de type I a été exclue sur l'absence de critères cliniques. Les séquençages des 4 exons de TMEM127 et l'étude des grands réarrangements par QMPSF ont été réalisés.

Résultats

Six mutations du gène ont été identifiées (0.9%, 6/642), affectant chacune un des domaines transmembranaires de la protéine. Trois mutations (p.Ala47Asp, p.Gln64HisfsX18, p.Tyr164X) ont été retrouvées chez des patients présentant des critères de forme héréditaire de PH, c'est-à-dire un jeune âge au diagnostic, un PH bilatéral et/ou une histoire familiale de PH. Les 3 autres mutations (p.Gln157X, p.Val68SerfsX13, p.Val90Met) ont quant à elles été identifiées chez des patients présentant un PH d'allure sporadique. Aucune mutation n'a été identifiée parmi les patients présentant un PGL et aucun grand réarrangement n'a été mis en évidence dans cette cohorte.

Conclusion

L'étude de TMEM127 est à considérer en seconde intention, après l'étude des principaux gènes de prédisposition au PH, chez tout patient présentant un PH qu'il soit d'apparence sporadique ou suggérant une forme héréditaire.

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P464 - LE DIAGNOSTIC GENETIQUE DU CANCER MEDULLAIRE DE LA THYROÏDE DANS L 'EST ALGERIEN
GENETIC DIAGNOSIS OF MEDULLARY THYROID CARCINOMA IN THE EAST OF ALGERIA

K Sifi (1), N Abadi (2), C Benlatreche (3), K Benmohamed (4), K Boudaoud (4), K Lezzar (4), N Nouri (5)
1. Laboratoire de Biochimie Laboratoire de biologie et de génétique moléculaire faculté de Médecine universite de Constantine Algérie, CHU Benbadis de Constantine, Constantine, Algérie
2. Laboratoire de biochimie Laboratoire de biologie et de génétique moléculaire Faculté de Médecine Université de Constantine Algérie, CHU Benbadis de Constantine, Constantine, Algérie
3. Laboratoire de biochimie Laboratoire de biologie et de génétique moléculaire Faculté de Médecine Université de Constantine Algérie, CHU Benbadis de Constantine, Constantine, Algérie
4. Service d`endocrinologie, CHU Benbadis de Constantine, Constantine, Algérie
5. Service d`endocrinologie, CHU de Constantine, Constantine, Algérie

Communication affichee

Introduction

Les cancers médullaires de la thyroïde (CMT) sont des tumeurs neuroendocrines qui se développent à partir des cellules C thyroïdiennes.
Ils se présentent sous deux formes :
● Sporadique vrai dans 75 % des cas
● Familiale dans près de 25 % des cas. Il s'intègre alors dans les néoplasies endocriniennes multiples de type 2
(NEM2A,NEM2B,FMTC).
La transmission des formes familiales est autosomique dominante avec une pénétrance de 100%.
Les mutations germinales du proto-oncogène RET sont bien connues pour être la cause génétique du CMT des
NEM2 .Elles peuvent être identifiées par un criblage génétique.
Le CMT familiale représente l'exemple de cancer bénéficiant du dépistage génétique. L'efficacité de ce dépistage
justifie d'ailleurs qu'il soit préconisé chez l'enfant et l'adulte ou un traitement préventif sera possible.
Les objectifs de notre étude étaient de:
q Rechercher des mutations ponctuelles dans le proto-oncogène RET chez le cas index et chez ses apparentés du 1er degré.

q Déterminer la fréquence, et la localisation des mutations dépistées et de les comparer aux données de la littérature.

Patients et méthodes

Notre étude a porté sur 40 patients des deux sexes, adressés par les services d`endocrinologie du CHU de
Constantine, repartis en 1 cas index de NEM2A, 26 cas index de CMT d`apparence sporadique et 13 apparentés
du 1er degré.
Après extraction d'ADN à partir des leucocytes de sang périphériques, la recherche de mutations dans le proto-

oncogène RET a été réalisée chez nos patients par un séquençage directe des exons : 8,9,10,11,13,14,15,16.
Résultats et discussion
La mutation germinale C634Y, de l'exon 11 a été identifiée chez 2 (8 %) des cas index, incluant 1 patient présentant

une NEM2A, 1 patient chez un des patients présentant un CMT d`apparence sporadique (néomutation), mais aussi
chez 7 des 13 apparentés.

Nos résultats concordent avec les travaux de Chin-Feng ,Chang ,Sanchez et al, Benazzouz et al montrant que la

mutation la plus fréquente a été retrouvée dans l'exon 11 au codon 634 en particulier la C634Y, de plus cette mutation

a été significativement associé chez nos patients NEM2A à la présence d'un phéochromocytome, ce qui concorde

avec les données de la littérature.

Quatre des apparentés porteurs de la mutation familiale C634Y ont pu bénéficier d`une thyroïdectomie prophylactique

,mais pour les trois autres la thyroïdectomie a été curative .

Conclusion

Nos résultats suggèrent que le spectre de mutation de RET observé chez nos patients concorde avec certaines

données de la littérature. L'identification de ces mutations permet d'identifier les apparentés à risque et de leur

proposer une thyroïdectomie prophylactique.
Mots clés :CMT,C634Y

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P465 - VARIATION DU RISQUE DE CANCER DU SEIN ASSOCIE AUX FACTEURS LIES AUX GROSSESSES DANS LA COHORTE GENEPSO (PORTEUSES DE MUTATION SUR LES GENES BRCA1/2) : MISE EN EVIDENCE D'UNE INTERACTION ENTRE PARITE ET LOCALISATION DE LA MUTATION

J Lecarpentier (1), C Noguès (2), E Mouret-Fourme (2), M Gauthier-Villars (3), C Lasset (4), JP Fricker (5), O Caron (6), D Stoppa-Lyonnet (7), P Berthet (8), L Faivre (9), V Bonadona (10), B Buecher (3), I Coupier (11), L Gladieff (12), P Gesta (13), L Huiart (14), M Frénay (15), E Luporsi (16), A Lortholary (17), C Colas (18), C Dugast (19), M Longy (20), I Tennevet (21), R Lidereau (2), N Andrieu (22), E GENEPSO (23)

1. Inserm U900 / Mines ParisTech / Institut Curie, Service de Biostatistiques, Institut Curie, Paris, France
2. Laboratoire d'Oncogénétique, Institut Curie, Hôpital René Huguenin, Saint-Cloud, France
3. Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France
4. DUniversité Lyon 1, CNRS UMR 5558 / Centre Léon Bérard, Unité de Prévention et Epidémiologie Génétique, Centre Léon Bérard, Lyon, France
5. Unité d'Oncologie, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
6. Service d'Oncologie Génétique, Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France
7. Inserm U830, Service de Génétique Oncologique, Université Paris-Descartes, Institut Curie, Paris, France
8. Service d'Oncogénétique, Centre François Baclesse, Caen, France
9. Oncogénétique et Hôpital d'enfants, Service de Génétique Médicale, Centre Georges François Leclerc, Dijon, France
10. Université Lyon 1, CNRS UMR 5558 / Centre Léon Bérard, Unité de Prévention et Epidémiologie Génétique, Centre Léon Bérard, Lyon, France
11. CHU Montpellier, Service de Génétique médicale et Oncogénétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
12. Service d'Oncologie Médicale, Institut Claudius Regaud, Toulouse, France
13. Pôle Oncologie pour la consultation oncogénétique régionale Poitou-Charentes, CH Georges Renon, Niort, France
14. Département d'Oncogénétique, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France
15. Unité d'Oncogénétique, Centre Antoine Lacassagne, Nice, France
16. Service d'Oncogénétique, Centre Alexis Vautrin, Vandœuvre-lès-Nancy, France
17. Service d'Oncogénétique, Centre Catherine de Sienne, Nantes, France
18. Département de Génétique, UF d'oncogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
19. Service de Génétique, Centre Eugène Marquis, Rennes, France
20. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Institut Bergonié, Bordeaux, France
21. Service oncologie médicale, Centre Henri Becquerel, Rouen, France
22. Inserm U900 / Mines ParisTech / Institut Curie, Service de Biostatistiques, Institut Curie, Paris, France
23. Groupe Génétique et Cancer, Unicancer, Paris, France

Dans la plupart des pays industrialisés le cancer du sein (CS) est le cancer le plus fréquent chez la femme en termes d'incidence et de mortalité. Les gènes BRCA1 et BRCA2 sont identifiés comme des gènes de susceptibilité au CS. Cependant les estimations du risque de CS chez des femmes porteuses de mutations sur ces gènes sont très variables en fonction des études. Cette hétérogénéité suggère l'action d'autres facteurs, génétiques ou autres, modulant l'action de ces gènes dans le développement de la tumeur. C'est dans ce contexte que nous avons étudié l'effet des facteurs liés aux grossesses sur le risque de CS en fonction de la localisation des mutations dans les gènes BRCA.

Nous avons utilisé un modèle de Cox pondéré pour prendre en compte le biais de recrutement des sujets de la cohorte GENEPSO. Pour éviter un sur-appariement sur la mutation, nous avons sélectionné par tirage au sort une femme par famille (990 femmes). Nous avons étudié les risques de CS associés aux grossesses et à l'allaitement, par gène muté, puis par localisation des mutations en utilisant les zones de risque de CS homogène précédemment décrites dans Lecarpentier et al.(2011).

Nos résultats confirment l'existence d'un effet protecteur d'un nombre croissant de grossesses menées à terme (GT) chez les porteuses de mutation sur les gènes BRCA1/2 (23% par GT additionnelle, IC95%=0.1-0.3). Par ailleurs nous observons une augmentation du risque de CS associé aux grossesses interrompues au court du 1er trimestre. Nous avons pris en compte simultanément l'effet divergeant des grossesses en fonction de leur issue sur le risque de CS, en créant le score TMAP qui mesure en % du temps total de gestation, sur l'ensemble des

grossesses, le temps cumulé dans la fenêtre des 3 premiers mois. L'augmentation de ce score est associé à une augmentation du risque de CS (TMAP>50% vs TMAP[30%-35%] : HR=1.97, IC95%=1.2-3.3). Ces risques ne varient pas en fonction du gène muté. En revanche, nos résultats montrent une interaction significative entre la parité et la localisation des mutations dans le gène BRCA1 (p inférieur à 10-3). Un effet protecteur de la parité est mis en évidence seulement lorsque la mutation se situe dans la zone à moindre risque de CS de BRCA1 (codons de 374 à 1161 ; HR=0.27, IC95%=0.1-0.6) et non lorsque celle-ci se trouve à l'extérieur de cette région (HR=1.39, IC95%=0.8-2.6).

Le score TMAP suggère l'existence d'un effet délétère des premiers mois de grossesses contrebalancé par les derniers mois de grossesses. Par ailleurs, l'interaction entre la parité et la localisation des mutations dans le gène BRCA1, montre la complexité des mécanismes de cancérogénèse même dans un système a priori plus homogène. Ces résultats confirment l'intérêt potentiel de prendre en compte tous les facteurs modificateurs (localisation des mutations, autres gènes, facteurs environnementaux/style de vie, etc.) dans l'estimation du risques de CS des femmes porteuses de mutations dans les gènes BRCA.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P466 - LA CONFIRMATION MOLECULAIRE DU SYNDROME DE LYNCH. A PROPOS D'UNE FAMILLE MAROCAINE.

L BOUGUENOUCH (1), I SAMRI (1), S BENNIS (1), A BOULOUZ (1), D BENAJAH (2), O EL MESBAHI (3), A IBRAHIMI (2), B BUECHER (4), D Stoppa Lyonnet (4), A AMARTI RIFFI (5), K OULDIM (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique. Laboratoire centrale d'analyses Médicales, Centre Hospitalier Universitaire HASSAN II, FES MAROC, FES, Maroc
2. Service de Gastro-entérologie, Centre Hospitalier Universitaire HASSAN II, FES MAROC, FES, Maroc
3. Service d'Oncologie Médicale, Centre Hospitalier Universitaire HASSAN II, FES MAROC, FES, Maroc
4. Service de génétique oncologique, Institut Curie, PARIS, France
5. 5. Service d'Anatomie-Pathologique ; Laboratoire centrale d'analyses Médicales, Centre Hospitalier Universitaire HASSAN II, FES MAROC, FES, Maroc

Le syndrome de Lynch, ou cancer colorectal héréditaire sans polypose ou HNPCC (hereditary non-polyposis colorectal cancer), est la forme la plus fréquente de cancer colorectal héréditaire. Il conduit à une augmentation de la susceptibilité à développer des cancers, au premier rang le cancer colorectal, le cancer de l'endomètre chez les femmes, et dans une moindre mesure, différents cancers (ovaire, intestin grêle, estomac, voies excrétrices urinaires et hépatobiliaires). Ainsi, le risque cumulé de développer un cancer colorectal ou de l'endomètre à l'âge de 80 ans s'élève respectivement a` 20 et 40 %. Ces cancers sont caractérisés par leur contexte d'atteinte familiale, leur survenue à un âge précoce, ainsi que par le développement de cancers métachrones chez un même individu. Ce syndrome se transmet de manière autosomique dominante. Les gènes dont l'altération est associée à l'existence d'un syndrome HNPCC appartiennent à la famille des gènes de réparation des mésappariements de l'ADN (DNA mismatch repair ou MMR): MSH2, MLH1 et MSH6 sont impliqués, par ordre décroissant de fréquence, dans respectivement 35%, 25% et 2% des cas. Une surveillance coloscopique et gynécologique est proposée aux personnes porteuses d'une mutation constitutionnelle du gène MSH2, MLH1 ou MSH6.

Nous rapportons une des premières observations marocaine d'un syndrome de lynch dont la mutation constitutionnelle du gène MLH1 a été identifié cher un des membres de la famille atteint d'un cancer du colon. Suite à la demande d'un sujet sain de la même famille, un diagnostic présymptomatique a été effectué revenant positif. Notre famille est actuellement suivie régulièrement selon les recommandations liées au Syndrome de Lynch.

A travers notre observation nous illustrant le rôle de l'oncogénétique dans la prise en charge des patients cancéreux et de leurs familles.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P467 - ROLE DES MUTATIONS GERMINALES DE SUFU ET DE PTCH1 DANS LA GENESE DES MEDULLOBLASTOMES DU CERVELET

L Brugieres (1), A Remenieras (2), G Pierron (3), P Varlet (4), N Sevenet (5), D Lafon (6), O Caron (7), C Dufour (1), B Bressac-de Paillerets (2), O Delattre (8), J Grill (1)

1. Département de Cancérologie de l'enfant et de l'adolescent, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
2. Département de Biopathologie, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
3. Laboratoire de Génétique et Biologie des Cancers, Institut Curie, Paris, France
4. Labortatoire de Neuropathologie, Hôpital Sainte Anne, Paris, France
5. INSERM U916 & Unité d'oncogénétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France
6. Unité d'oncogénétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France
7. Departement de Médecine Oncologique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
8. Unité INSERM 830 et Laboratoire de Génétique et Biologie des Cancers, Institut Curie, Paris, France

Introduction

L'implication de la voie sonic hedgehog dans la genèse des médulloblastomes desmoplasiques est actuellement bien établie notamment par la mise en évidence de mutations somatiques des gènes PTCH1 et SUFU. Ces deux gènes sont impliqués dans la prédisposition au médulloblastome notamment dans sa forme desmoplasique: les mutations germinales inactivatrices du gène PTCH1 impliquées dans le cadre du syndrome de Gorlin et les mutations inactivatrices du gène SUFU rapportées récemment dans des familles avec plusieurs cas de médulloblastomes chez de jeunes enfants, notamment dans 2 familles de notre institut.

Objectif

Evaluer de rôle de ces mutations dans la genèse des médulloblastomes en apparence sporadiques.

Patients et méthodes

Tous les patients suivis à l'Institut Gustave Roussy pour un médulloblastome du cervelet entre 1975 et 2008 et pour lesquels un prélèvement sanguin était disponible ont été inclus dans l'analyse.

Sur les 143 patients avec un prélèvement disponible, 12 ont été exclus pour les raisons suivantes : 1 refus, 11 anomalies génétiques prédispositantes déjà identifiée (4 medulloblastomes familiaux avec mutation SUFU, 3 syndromes de Gorlin, 2 syndrome de Li-Fraumeni).

Pour les autres patients, un criblage des mutations de SUFU et de PTCH1 sur l'ADN génomique extrait de lymphocytes et une relecture systématique des lames histologiques ont été effectués.Au total 131 patients ont été étudiés pour SUFU et 104 pour PTCH1.

Résultats

Sur les 131 échantillons, 8 mutations du gène SUFU (une duplication de grande taille et 7 mutations ponctuelles) et 12 variants de signification inconnue(VSI) a priori sans conséquence pathologique ont été identifiés. Toutes les mutations ont été identifiées chez des patients de moins de 3 ans au diagnostic,chez 3/3 médulloblastomes à nodularité extensive, 4/20 médulloblastomes desmoplasiques et 1/108 dans les autres sous-types.Les parents ont pu être testés dans 6 cas: les mutations étaient héritées du père dans 4 cas et étaient des mutations de novo dans les 2 autres cas. Des signes associés étaient présents chez 6 patients : une macrocranie chez 6 patients, un hypertélorisme chez 3 et des carcinomes baso-cellulaires multiples après l'âge de 18 ans chez un patient.

Parmi les 104 échantillons étudiés pour PTCH1, une seule mutation délétère a été identifiée chez un patient ayant présenté un médulloblastome desmoplasique du cervelet et plusieurs carcinomes basocellulaires ayant fait évoquer un syndrome de Gorlin. Nous avons également identifié 3 VSI et une dizaine de nouveaux polymorphismes.

Conclusion

Les mutations germinales de SUFU sont responsables d'une proportion importante des médulloblastomes du cervelet chez les enfants de moins de 3 ans alors que les mutations de

PTCH semblent plus rares dans ce contexte. Une consultation de génétique et une recherche de mutation germinale de SUFU doit pouvoir être proposée chez tous les enfants présentant un médulloblastome dans les premières années de vie

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P468 - INDICATIONS DES TESTS GENETIQUES DANS LES CANCERS DU REIN ISOLES

S GIRAUD (1), E ROULEAU (2), AP GIMENEZ-ROQUEPLO (3), A BARLIER (4), P PIGNY (5), D PRUNIER (6), N ABERMIL (3), A BUFFET (3), B BRESSAC (7), S DEVEAUX (8), S RICHARD (9), C Réseau national INCa et le Centre Expert National Cancers Rares PREDIR "Maladie de VHL et prédispositions héréditaires au cancer du rein de l'adulte" (10)

1. Serice de Génétique Moléculaire et Clinique, Hospices civils de Lyon, Hôpital E. Herriot, Lyon, France
2. Laboratoire d'oncogénétique, Centre René Huguenin, Saint Cloud, France
3. Laboratoire de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
4. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
5. Laboratoire de Biochimie et Oncologie Moléculaire, Centre de Biologie Pathologie, CHRU de Lille, Lille, France
6. Plateau de Biologie et Médecine Moléculaire -Institut de Biologie et Santé, CHU d'Angers, Angers, France
7. Service de Génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, Gabon
8. Laboratoire de Génétique Oncologique EPHE, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
9. Laboratoire de Génétique Oncologique EPHE, INSERM U753, Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif et Faculté de Médecine Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France
10. Laboratoire de Génétique Oncologique EPHE, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France

INTRODUCTION

Les prédispositions héréditaires aux tumeurs rénales sont estimées à 2 à 3% de l'ensemble des cancers du rein mais sont importantes à diagnostiquer car elles permettent dans les familles à risque de proposer une surveillance et un traitement précoce aux sujets prédisposés. Dans le cadre de ces prédispositions sont principalement étudiés selon le type histologique les gènes VHL, FLCN, FH, MET et SDHB. L'objectif du travail présent est de vérifier les indications des analyses génétiques constitutionnelles dans le cadre de cancer du rein isolé.

MATERIEL ET METHODES

Nous avons rassemblé les données issues de 6 laboratoires associés au réseau PREDIR, réseau national INCA "Maladie de VHL et prédispositions héréditaires au cancer du rein" ainsi que les données présentes dans la database nationale du réseau sur les résultats obtenus par l'analyse constitutionnelle des gènes VHL, FLCN, FH, MET et SDHB dans le cadre de cancers du rein isolés sans autre manifestation évocatrice d'un syndrome de prédisposition particulier. Les critères étudiés pour chaque gène ont été le nombre de patients analysés, le type anatomo-pathologique du cancer du rein, l'âge de survenue du cancer, le pourcentage de mutation identifiée et les caractéristiques des mutations.

RESULTATS

Dans le cadre de tumeurs rénales à cellules claires ont été analysés les gènes VHL et SDHB : dans la série présente 3 mutations de VHL ont été identifiées chez 369 patients analysés, aucune mutation de SDHB n'a été retrouvé chez 90 patients.

Chez 94 patients atteints de cancer papillaire de type 1, 15 cas familiaux et 79 cas isolés, 6 mutations de MET ont été identifiés: 3 dans des situations familiales et 3 mutations chez des cas isolés. L'analyse de FH a été réalisée chez 13 patients atteints de cancer papillaire de type 2 et a retrouvé 2 mutations.

L'analyse du gène FLCN a été réalisée chez 160 patients atteints de cancer du rein isolé : 2 mutations ont été identifiées dans un cas de cancer du rein à cellule claires et un cas de tumeur chromophobe.

CONCLUSION-PERSPECTIVES

Il est aujourd'hui proposé de réaliser une analyse génétique systématique devant tout patient porteur d'un cancer du rein avant 45 ans, analyse orientée suivant le type histologique. Dans les données recueillies ici, en dehors des cancers papillaires, le pourcentage de mutation identifié est extrêmement faible ; toutefois ces résultats doivent êtres mis en balance par rapport aux examens cliniques nécessaires pour éliminer un syndrome familial. Ce travail sera présenté en

novembre 2011 à la réunion nationale du groupe PREDIR afin de savoir si ces indications d'analyse sont maintenues. Peut-on aussi envisager de réaliser une échographie aux apparentés au premier degré majeurs d'une personne ayant eu un cancer du rein, et de réserver les analyses génétiques aux cas où une autre tumeur rénale serait diagnostiquée ? Les conclusions du groupe seront présentées aux assises.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P469 - ETUDE DE L'OBSERVANCE MAMMAIRE ET OVARIENNE DES FEMMES PORTEUSES D'UNE MUTATION BRCA A PARTIR DE L'EXPERIENCE PILOTE BOURGOGNE/FRANCHE-COMTE

F CORON (1), A DAMETTE (2), A CUEFF (3), C RAMBAUD (1), C POPULAIRE (2), C CASSINI (1), F DEBOMY (1), S GAUTHIER (1), C LAROCHE (1), B GEORGES (3), C LOUSTALOT (4), JL SAUTIERE (5), F GUY (6), X PIVOT (7), P FUMOLEAU (8), MA COLLONGE-RAME (2), L FAIVRE (1)

1. Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon, France
2. Unité d'Oncogénétique, Service de Génétique Biologique, CHU Besançon, Besançon, France
3. Service d'Oncogénétique, Centre Georges François Leclerc, Dijon, France
4. Service de Gynécologie, Centre Georges François Leclerc, Dijon, France
5. Service de Gynécologie, Obstétrique et Reproduction, CHU Besançon, Besançon, France
6. Service de Radiologie, Centre Georges François Leclerc, Dijon, France
7. Service d'Oncologie Médicale, CHU, Besançon, France
8. Service d'Oncologie Médicale, Centre Georges François Leclerc, Dijon, France

Des expériences pilotes de suivi des personnes porteuses d'une prédisposition génétique aux cancers, ont été définies en 2009 et financées par l'INCA. Dans ce cadre, une base de données spécifique a été mise en place pour le suivi de ces patients en Bourgogne-Franche Comté. Une étude de l'observance des recommandations de surveillance mammaire et ovarienne pour les patientes porteuses d'une mutation BRCA a été réalisée à partir des données collectées. Ces données ont été obtenues auprès des patientes ou de leur médecin, pour les patientes âgées d'au moins 30 ans, et connaissant leur statut génétique depuis au moins 2 ans. Sur le plan mammaire, une mauvaise observance a été définie par un suivi mammaire espacé de plus de 18 mois. Sur le plan ovarien, une mauvaise observance a été définie par la non réalisation d'une ovariectomie après l'âge de 50 ans. Les 2 centres de Bourgogne et de Franche-Comté suivent 299 patients porteurs d'une mutation BRCA (226 en Bourgogne et 73 en Franche Comté), comprenant 249 femmes vivantes. 232 femmes sont âgées de plus de 30 ans, et 116 âgées de plus de 50 ans.

Une mammectomie prophylactique a été réalisée chez 11/232 femmes (5%), qui avaient dans 9 cas déjà présenté un cancer, et chez des femmes asymptomatiques dans 2 cas. Les données de suivi mammaire ont pu être obtenues chez 101/232 femmes, et chez 146/232 femmes pour le suivi ovarien. Sur le plan mammaire, 62% des patientes ont une bonne observance et 84% bénéficient d'un suivi par IRM. Concernant la prise en charge ovarienne, seules 6/73 femmes (8%) n'ont pas bénéficié d'annexectomie à plus de 50 ans. Les causes de non réalisation étaient les suivantes : 2 patientes ont refusé le geste, une l'a différé en raison de problèmes de santé ; pour les 3 autres patientes, l'indication n'a pas été retenue pour raison médicale : cancer du sein métastatique pour l'une, âge supérieur à 70 ans et mauvais état général pour les 2 autres.

En conclusion, la grande majorité des femmes mutées BRCA ont bien suivi les recommandations de prise en charge ovarienne. En revanche, 1/3 des patientes ne réalise pas une surveillance mammaire suffisamment régulière. Ces premières données montrent l'importance de la mise en place de ces expériences pilotes pour l'amélioration de la prise en charge des patients génétiquement prédisposés aux cancers. La récupération des données du reste de la cohorte se poursuit.

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P470 - DDB2 EST UN GENE MAJEUR IMPLIQUE DANS LA PREDISPOSITION AU CARCINOME BASOCELLULAIRE MULTIPLE ET/OU FAMILIAL

DDB2 IS A MAJOR GENE INVOLVED IN PREDISPOSITION TO FAMILIAL AND/OR MULTIPLE BASAL CELL CARCINOMA

A Bourillon (1), N Basset-Seguin (2), V Descamps (3), HH Hu (2), M Bagot (2), A Bensussan (2), O Dereure (4), l Thomas (5), B Grandchamp (1), N Soufir (6)
1. Service de Génétique, Hopital Bichat, APHP, Universite Paris VII, Paris, France
2. Centre de Recherche sur la Peau, Inserm U976, Hopital Saint Louis, APHP, Universite Paris VII, Paris, France
3. Service de Dermatologie, Hopital Bichat, APHP, Universite Paris VII, Paris, France
4. Service de Dermatologie, CHU de Montpellier, Montpellier, France
5. Service de Dermatologie, CHU de Lyon, Lyon, France
6. Centre de Recherche Sur la Peau, Inserm U976; Service de Génétique; Université Paris VII, Hopital Bichat; Hopital Saint Louis, Paris, France

La protéine DDB2 (Damaged-DNA binding protein 2) est un des éléments du système NER (nucleotide excision repair) impliquée dans la reconnaissance des mutations induites par les UV, en formant un complexe hétérodimérique avec la protéine DDB1. De plus, elle possède une activité ubiquitine ligase E3, et active l'apoptose des cellules. Des mutations du gène DDB2 sont responsables d'un sous-groupe rare de xeroderma pigmentosum (XP-E). Nous avons étudié le gène DDB2 comme gène candidat dans la prédisposition au carcinome basocellulaire (CBC), le cancer le plus fréquent chez les caucasiens.
Cent malades atteints de CBC multiples (au moins 2 CBCs) et/ou familiaux (au moins 2 apparentés atteints) ont été inclus dans l'étude. L'ADN des malades a été extrait après signature d'un consentement éclairé. Tous les exons et les jonctions adjacentes des exons de DDB2 ont été séquencés (Applied Biosystems 3130). L'analyse informatique des séquences a été réalisée par SeqScape 2 et le caractère délétère des variants faux-sens et introniques a été étudié par les sites de prédiction informatique (Sift, Polyphen, SNP3D, SSF). La fréquence allélique des variants fonctionnels a été comparée à celle de 1350 individus caucasiens d'une population caucasienne contrôle de référence du projet de séquençage d'exomes (http://snp.gs.washington.edu/EVS/).
Huit variants délétères du gène XPE ont été identifié chez 6 patients (6%) : 2 variants introniques à l'état hétérozygote prédits comme ayant un effet sur l'épissage, une mutation non-sens à l'état homozygote, un malade hétérozygote composite comprenant un frameshift et un variant faux sens, et 2 variants faux sens à l'état hétérozygote. Tous les variants faux-sens étaient prédits délétères par 3 sites de prédiction : Sift, Polyphen, Snp3D. L'analyse des bases de données des variants exoniques (exome variant serveur) ne permettait de retrouver pour le gène DDB2 que 2 mutations délétères sur 2700 allèles séquencés ($P < 0.0001$, Odd Ratio= 56.25 [11- 386], risque relatif, 12 [6.57-14.65].
Alors que le gène XPE/DDB2 est responsable d'un des sous-groupes les plus rares de xeroderma pigmentosum, notre étude montre qu'il est fortement impliqué dans la prédisposition à certaines formes de carcinomes basocellulaires (environ 30%). De manière intéressante, 4 patients étaient hétérozygotes simples, alors que le XP est une maladie autosomique récessive. Cependant, les souris DDB2 + /- et irradiées par les UV développent des carcinomes cutanés, suggérant fortement que l'inactivation d'un seul allèle peut avoir des conséquences pathogènes. L'analyse de ségrégation des mutations est en cours dans certaines familles, de même que l'étude fonctionnelle (étude de la réparation de l'ADN notamment) afin de confirmer leur effet délétère. Ces résultats pourraient avoir d'importantes conséquences sur le conseil génétique et la prise en charge, qui doivent être évaluées par d'autres travaux.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P471 - INTERACTIONS A LONGUE DISTANCE DU LOCUS 4Q35 : LES 3 DIMENSIONS DE LA DYSTROPHIE FACIO-SCAPULO-HUMERALE.

J MORERE (1), E BARRUET (2), C SCHLUTT BOLARD (3), S ROCHE (4), N BROUCQSAULT (1), M BERRO (2), C EL YASIDI (5), E GILSON (3), B BINETRUY (5), F MAGDINIER (1)

1. Equipe "Epigénétique, Chromatine et Maladies", Laboratoire de Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, Inserm UMR_S 910, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France
2. Murigenetics, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France
3. Laboratoire de Biologie Moléculaire de la Cellule, Ecole Normale Supérieure de Lyon, CNRS UMR 5239, UCBL1, Lyon, France
4. "Epigénétique, Chromatine et Maladies", Laboratoire de Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, Inserm UMR_S 910, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France
5. IFR 125 IPHM, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France

La dystrophie facio-scapulo-humérale, ou FSHD, est une maladie d'hérédité autosomique dominante, caractérisée par un affaiblissement des muscles de la face, et progressant de façon asymétrique au reste du corps.

Des analyses de liaison ont montré que 95% des cas sont associés à la délétion de D4Z4, macrosatellite polymorphe de 3,3Kb, répété en tandem dans la région subtélomérique du bras long du chromosome 4, mais aucun gène candidat n'a clairement été identifié, et l'existence de patients sans contraction (FSHD2), suggère des mécanismes épigénétiques complexes.

D4Z4 serait un élément possédant des caractéristiques hétérochromatiniennes particulières, hypométhylé chez les patients atteints de FSHD et pouvant être transcrit en un rétrogène, DUX4 dont la traduction en protéine serait toxique dans le muscle des malades.

Les répétitions D4Z4 ont la capacité à positionner les séquences adjacentes dans l'espace nucléaire. Nous avons par exemple montré que D4Z4 pouvait diriger un télomère vers la périphérie nucléaire. La disposition et la localisation des gènes n'est pas aléatoire au sein du noyau, c'est un processus dynamique. Nous supposons qu'il pourrait y avoir une désorganisation tri-dimensionnelle du locus 4q35 chez les malades, à l'origine de dérégulations dans l'expression des gènes de la maladie. L'objectif nos travaux est de comprendre quelle est la conformation chromatinienne du locus 4q35 chez les malades et les individus non atteints, et quelles en sont les interactions entre séquences, proches ou distantes, dans la survenue de la FSHD.

Pour cela, nous avons mis au point une technique de FISH couplée à une immunofluorescence en trois dimensions afin d'étudier la distribution tridimensionnelle de séquences d'ADN en fonction du volume nucléaire.

Nos expériences ont été réalisées sur des cellules humaines de patients FSHD et de contrôles et sur des cellules souches pluripotentes induites (IPSc), que nous avons reprogrammé à partir de fibroblastes primaires de patients.

Nous espérons que ces approches permettront de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents de cette pathologie évolutive, afin d'identifier des gènes cibles de la maladie et comprendre comment la diminution du nombre de D4Z4 entraîne cette dystrophie.

MOTS CLES : FSHD, D4Z4, conformation tridimensionnelle, FISH, IPS

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P472 - VARIABILITE EPIGENETIQUE DU SYNDROME DE DI GEORGE : CONSEQUENCES DE L'HAPLOINSUFFISANCE DE L'HISTONE CHAPERONE HIRA.

M DEVEZE (1), N PHILIP (2), F MAGDINIER (1)

1. Equipe "Epigénétique, Chromatine et Maladies", Laboratoire de Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, Inserm UMR_S 910, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France
2. Service de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone Enfants, Rue Saint Pierre, Marseille, France

Le syndrome de Di George (SDG) est une anomalie génétique constitutionnelle caractéristique associée à une perte de matériel génétique au locus 22q11.2 avec une prévalence de 1 naissance sur 4000 à 6000. Cette maladie comprend différents signes, tels qu'une malformation cardiaque, une anomalie du palais, une mauvaise régulation du taux de calcium sanguin, des perturbations du système immunitaire, une apparence du visage caractéristique et des difficultés d'apprentissage, troubles émotionnels et psychiatriques. La majorité des patients présente une délétion de 3 Mb au locus 22q11.2 médiée par des séquences de type LCR (Low Copy Repeats) et concerne une quarantaine de gènes. Cette délétion peut être variable d'un patient à l'autre et parfois seules quelques paires de bases sont concernées. Les conséquences de ces anomalies sont très variables et aucune corrélation n'a pu être établie entre la taille de la délétion et la pénétrance des symptômes. L'un des gènes majeurs du DGS est le gène TBX1. L'haploinsuffisance de TBX1 est la cause majeure de 5 des signes cliniques du DGS tels que l'anomalie cardiaque, l'hypoplasie thymique, l'insuffisance vélaire et pharyngée, la fente palatine, l'atteinte parathyroïdienne et l'hypocalcémie. En revanche, ce gène n'explique pas à lui seul la grande variabilité phénotypique et ne contribue pas de façon majeure aux troubles psychiatriques et cognitifs. Parmi les gènes délétés dans le SDG, nous pensons que le gène HIRA codant pour une chaperonne d'histone, responsable de la déposition du variant d'histone H3.3 de manière indépendante de la réplication pourrait influencer le phénotype des patients. La régulation de HIRA et les gènes cibles de cette protéine sont encore mal identifiés. Nous cherchons donc à comprendre l'effet de cette haploinsuffisance sur l'organisation de la chromatine chez les patients atteints de SDG et la déposition globale en H3.3 par immunoprécipitation de la chromatine couplée à un séquençage à haut débit (ChIP-Seq) afin d'identifier les séquences cibles régulées par HIRA.

La perspective de ce travail est de comprendre comment l'haploinsuffisance de HIRA peut moduler le profil de régulation de ces gènes et leur expression.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P473 - LES VARIANTS RARES DU GENE CHEK2 CONTRIBUENT AU RISQUE HEREDITAIRE DU CANCER DU SEIN CHEZ LES FAMILLES NON-BRCA

Y BIDET (1), YJ Bignon (2), A DESRICHARD (3), N Uhrhammer (3)

1. Université d'Auvergne, Centre Jean Perrin, clermont ferrand, France
2. Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, Université d'Auvergne, Centre Jean Perrin, clermont ferrand, France
3. Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, Centre Jean Perrin, clermont ferrand, France

Les mutations dans les gènes BRCA1 et BRCA2 ne sont responsables que d'environ 50% du risque héréditaire du cancer du sein. L'origine des familles « non BRCA » peut être attribuée en partie à des mutations dans les gènes donnant un risque relatif modéré, tels que CHEK2. Notre étude porte sur la contribution des mutations CHEK2 au risque héréditaire non lié aux gènes BRCA, par séquençage direct de sa séquence codante. Quinze mutations ont été découvertes parmi les 507 cas non-BRCA et quatre parmi les 513 contrôles. La fréquence des variants CHEK2 était significativement plus élevée chez les cas ($p = 0,0076$), attribuant un risque relatif pour le cancer du sein de 4,72 pour les porteurs d'une mutation délétère. Nous avons ensuite utilisé des outils in silico ainsi que l'activité kinase in vitro de CHEK2 pour caractériser les protéines recombinantes mutantes.

La pénétrance des mutations du gène CHEK2 est incomplète, ce qui suggère l'implication d'autres gènes qui agissent de concert avec CHEK2. Vingt gènes à risque relatif modéré supplémentaires vont être séquencés par pyroséquençage chez les patients et témoins mutés pour CHEK2.

Parce que les mécanismes de la tumorigenèse associés aux variants CHEK2 sont encore peu clairs, nous effectuons des analyses histologiques, génétiques et épigénétiques de ces tumeurs. Les caractéristiques histologiques et immunohistochimiques ainsi que le grade des tumeurs développées par les patients mutés CHEK2 ont été évalués. Pour déterminer la perte d'hétérozygotie du gène CHEK2 dans ces tumeurs, trois SNPs couvrant le locus du gène CHEK2 ont également été étudiés. De plus, la méthylation de l'ilôt CpG proximal de CHEK2 est en cours d'étude. Bien que l'utilité d'un conseil génétique pour des gènes à pénétrance modérée reste controversée, nos résultats suggèrent une contribution de CHEK2 au cancer héréditaire du sein.

POSTER

4. Gènes, chromosomes et cancer

P474 - REGULATION DU RETROGENE DUX4 PAR LA METHYLATION DE L'ADN DANS LA DYSTROPHIE FACIO-SCAPULO-HUMERALE.

N BROUCQSAULT (1), MC GAILLARD (1), S ROCHE (2), J MORERE (1), C CHAIX (1), K NGUYEN (1), F MAGDINIER (1)

1. Equipe "Epigénétique, Chromatine et Maladies", Laboratoire de Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, Inserm UMR_S 910, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France

2. "Epigénétique, Chromatine et Maladies", Laboratoire de Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, Inserm UMR_S 910, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France

La dystrophie Facio-Scapulo-Humérale (FSHD) est une dystrophie musculaire transmise selon un mode autosomique dominant. Elle est majoritairement liée à un réarrangement causant la réduction du nombre de répétitions d'un élément macrosatellite de 3,3 Kb situé au locus 4q35, D4Z4. D4Z4 contient le cadre ouvert de lecture d'un rétrogène, DUX4, dont l'expression, décrite comme toxique au cours de la myogenèse, est normalement réprimée dans les cellules somatiques. Chez les patients FSHD, sa surexpression a été suggérée comme impliquée dans la pathogenèse. Les répétitions D4Z4 présentent certaines des caractéristiques de l'hétérochromatine dont une forte densité en dinucléotides CpGs. Chez les patients FSHD, une hypométhylation de l'ADN a été décrite. Cependant, les mécanismes en cause, et le lien entre cette modification épigénétique, la maladie, la régulation du nombre de D4Z4 et l'expression de DUX4 restent inconnus.

Nous avons donc cherché à déterminer le lien entre méthylation de l'ADN et expression de DUX4 dans différents échantillons de patients FSHD, et développé de nouvelles méthodes pour l'analyse globale de la méthylation chez ces patients.

Jusqu'à présent, les analyses de méthylation chez les patients FSHD ont été réalisées par Southern blot après digestion par des enzymes de restriction sensibles à la méthylation. Cette technique reste cependant difficile à mettre en œuvre et ne permet d'analyser que la première et la dernière répétition D4Z4. Nous travaillons à la mise au point de deux méthodes globales, telles que l'immunoprécipitation de l'ADN méthylé (MeDIP) à partir de biopsies de patients et le peignage moléculaire associé à la détection des CpGs méthylés. Par ces méthodes, nous souhaitons confirmer l'hypométhylation de D4Z4 au locus 4q35 par rapport au niveau de méthylation d'autres séquences répétées du génome et étudier l'effet de cette hypométhylation sur l'expression de DUX4. Nous avons donc étudié le profil d'expression de DUX4 dans les mêmes biopsies ou myoblastes primaires de patients et dans des échantillons contrôle. Afin de comprendre le lien entre méthylation de l'ADN et expression de DUX4, nous avons également invalidé l'expression des différentes ADN méthyltransférases (DNMT) par expression de ShRNA après infection lentivirale, mesuré le niveau de méthylation de D4Z4 et de différentes classes de séquences répétées et évalué l'impact de cette hypométhylation induite sur l'expression de DUX4.

Nous montrons que l'expression de DUX4 est faiblement détectable dans les cellules de patients et que cette expression peut être induite par hypométhylation. Nos résultats permettront de mieux comprendre le rôle des altérations épigénétiques dans la pathologie ainsi que les mécanismes physiopathologiques de la FSHD. Enfin, une nouvelle approche de peignage moléculaire, exploitable à la fois en recherche et en diagnostic, nous permettra de visualiser les régions d'ADN méthylées grâce à l'immunodétection des méthyl-cytosines.

POSTER
4. Gènes, chromosomes et cancer

P475 - REMODELAGE DE LA CHROMATINE DU PRONUCLEUS MALE: IDENTIFICATION DE LA YEMANUCLEINE-ALPHA (ORTHOLOGUE DE UBN1) COMME PARTENAIRE FONCTIONNEL DE LA CHAPERONE HIRA DU VARIANT D'HISTONE H3.3

A ALGAZEERY (1), GA ORSI (2), RE MEYER (1), M CAPRI (1), B LOPPIN (2), O AÏT-AHMED (1)
1. Institut de Génétique Humaine, CNRS, Montpellier, France
2. Centre de Génétique Moléculaire et Cellulaire, Université de Lyon, Villeurbanne, France

Remodelage de la chromatine du pronucleus mâle: identification de la Yemanucléine-alpha (orthologue de UBN1) comme partenaire fonctionnel de la chaperone Hira du variant d'histone H3.3

Chromatin remodeling of the male pronucleus: identification of Yemanuclein-alpha (UBN1 orthologue) as a functional partner of the HIRA histone H3.3 chaperone

A. Algazeery1, GA. Orsi2, RE. Meyer1, M. Capri1, B. Loppin2 & O. Aït-Ahmed1
1: Institut de Génétique Humaine, CNRS UPR 1142, Montpellier, F-34396, France
2: Centre de Génétique Moléculaire et Cellulaire, CNRS UMR5534, Université de Lyon, Villeurbanne, F-69622, France

Mots clés : Reproduction, épigénétique, ségrégation chromosomique, méiose, Drosophile

Understanding the mechanisms that underlie sexual reproduction is a major challenge in biomedical research. It is relevant to Human reproductive biology but also to stem cell research and pluripotency issues.
Sexual reproduction relies on two key events: formation of cells with a haploid genome (the gametes) and restoration of diploidy after fertilization. The paternal pronucleus undergoes profound modifications that rely exclusively on the expression of the maternal genome. These modifications are required because after male meiosis, histones are replaced by protamines that ensure genome protection during the sperm journey. At fertilization, the protamines must be removed and the male pronucleus provided with new histones, a prerequisite for male genome replication and syngamy.
Mutations that affect the remodeling of the male pronucleus in Drosophila are characterized by female sterility. Loppin et al have shown that mutations on the HIRA histone H3.3 chaperone result in such phenotypes (Loppin et al, 2005). Our laboratory has identified Yemanuclein-alpha (Yem-alpha), a protein that is specific for the female germ line (Aït-Ahmed et al, 1992). Mutation on Yem-alpha (V478E) results in female sterility. However exceptional offspring may be recovered which surprisingly are parthenogenetic. To account for this finding, one has to assume that V478E mutation affects both female meiosis (leading to the formation of diploid gametes) and post-fertilization events (resulting in exclusion of the paternal genome). Indeed we have shown that Yem-alpha plays a pivotal role in female meiosis (Meyer, Delaage et al, 2010; Meyer, Algazeery et al, in preparation) and in collaboration with Loppin and coworkers, we were able to show that Yem-alpha is also required for male pronucleus remodeling (Orsi, Algazeery et al, in revision). Moreover we show that Yem-alpha forms a functional complex with HIRA, which complex is required for histone H3.3 deposition. Yem-alpha was the first member ever characterized of the HPC2/UBN1 family of proteins whose role in replication independent chromatin remodeling remained elusive until very recently. In addition its pivotal role in other essential functions of sexual reproduction raises novel outstanding issues.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P476 - DIAGNOSTIC RAPIDE DES ANEUPLOÏDES ET DES SYNDROMES DE MICRODELETIONS/MICRODUPLICATIONS EN ANTENATAL PAR LA TECHNIQUE MLPA (MULTIPLEX LIGATION-DEPENDENT PROBES AMPLIFICATION)

S HANSSENS (1), V HOUFFLIN-DEBARGE (2), P VAAST (1), JB SAVARY (3), B DE MARTINVILLE (3)

1. Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Lille, Hôpital Jeanne de Flandre et Faculté de Médecine Henri -Warembourg – Université Lille 2 Droit et Santé, LILLE, France

2. Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Lille, Hôpital Jeanne de Flandre et Faculté de Médecine Henri -Warembourg – Université Lille 2 Droit et Santé, LILLE, France

3. Laboratoire de Génétique Médicale, CHRU de Lille, Hôpital Jeanne de Flandre et Faculté de Médecine Henri - Warembourg – Université Lille 2 Droit et Santé, LILLE, France

Les techniques de biologie moléculaire, telle que la MLPA (multiplex ligation-dependent probes amplification) sont aussi fiables, mais également plus rapides pour le diagnostic des aneuploïdies fréquentes (impliquant les chromosomes 13, 18, 21, X et Y) que la cytogénétique conventionnelle. Elles permettent par ailleurs, le diagnostic de certains syndromes de microdélétions/microduplications. Cette étude est la synthèse du travail de mise en place de cette technique au CHRU de Lille. Il s'agit d'une étude prospective descriptive. 487 échantillons de liquide amniotique ont été recueillis de façon consécutive et prospective entre avril et décembre 2010, et ont été analysés simultanément par MLPA et par caryotype. 485 échantillons de liquide amniotique ont été étudiés. Les résultats étaient concordants avec le caryotype dans 93.6 % des cas (n=454) ; 23 anomalies chromosomiques ont été dépistées (4.7 %), sans faux positif ni faux négatif, avec des résultats obtenus en 6.4 jours, soit un gain de 16.9 jours par rapport au caryotype. Cinq syndromes microdélétionnels ont été identifiés : 1 délétion et 1 duplication 22q11, 1 syndrome de McPheland-Dermis par délétion 22q13, 1 syndrome d'Angelman par délétion 15q11.2, 1 délétion 18p11.2. Treize anomalies (2.7 %) n'étaient pas identifiables par MLPA, dont 2 triploïdies 69,XXX; il y a eu 7 contaminations maternelles (1.4 %) et 4 échecs techniques (0.8 %). La technique MLPA ayant une sensibilité et une spécificité de 100 % permet le diagnostic rapide des aneuploïdies les plus fréquentes ainsi que l'identification de certains syndromes microdélétionnels. Elle pourrait être utilisée seule pour le diagnostic de la trisomie 21, mais elle doit rester associée au caryotype en cas de signes d'appel échographique ou d'antécédents afin de diagnostiquer les anomalies de structure des chromosomes, non identifiables par le dépistage rapide.

MOTS CLEFS : MLPA, diagnostic prénatal, aneuploïdies, trisomie 21, syndromes microdélétionnels, microdélétions, microduplications, dépistage rapide des aneuploïdies

TITRE anglais :Rapid detection of aneuploidies and microdeletions/microduplications syndromes in prenatal diagnosis by MLPA (multiplex ligation-dependent probes amplification)

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P477 - DETECTION DES ACIDES NUCLEIQUES LIBRES, ADN, ARN ET MIRNA DANS LES EXOSOMES : NOUVEAUX BIOMARQUEURS NON-INVASIFS PENDANT LA GROSSESSE

MA coulomb (1), N Bonello (2), N Beaufils (2), J Courageot (3), M Tsochandaridis (4), F Dignat-George (5), J Gabert (2), A Levy-Mozziconacci (6)

1. Service Gynécologie Obstétrique, Hopital Nord, Marseille, France
2. Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Unité Biologie Materno-fœtale, Hôpital Nord, APHM, Aix-Marseille Université, Marseille, France
3. Département de microscopie électronique, Unité Inserm 608, INSERM, Marseille, France
4. Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Unité Biologie Materno-foetale, Hopital Nord, APHM, Aix-Marseille Université, Marseille, France
5. Unité INSERM 608, INSERM, Marseille, France
6. Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Unité Biologie Materno-foetale, Hôpital Nord, APHM, Aix-Marseille Université, Marseille, France

Durant la grossesse, les cellules placentaires relarguent dans la circulation sanguine maternelle des acides nucléiques extracellulaires (ANEC), qui peuvent être détectés et ainsi permettre un diagnostic prénatal. La difficulté actuelle de ce type d'approche est lié au chimerisme fœto-maternelle (3%-6%). Ces cellules placentaires sécrètent des vésicules (exosomes, microparticules) qui interviennent dans les communications intercellulaires. Nous posons donc l'hypothèse que les cellules placentaires sécréteraient des acides nucléiques, ADN, ARN et miRNA par cette voie et pourraient donc être une source de nouveaux biomarqueurs fœtaux non invasifs facilement isolables dans le plasma maternel.

A partir du surnageant de lignée de cellules trophoblastiques (JEG-3) les microvésicules (microparticules et exosomes) ont été isolées par un protocole de centrifugation/ultracentrifugation validée par microscopie électronique. Les microparticules ont été analysées par cytométrie de flux. La quantification d'ADN (gène β-globine et gène SRY), d'ARN (gène GAPDH et HLA-G) et de microARN placentaire (miARN ; mir-96 et mir 23a) a été réalisée par PCR en temps réel dans les exosomes et les microparticules avec ou sans traitement à la DNase et au triton 0.01%.

L'ADN et l'ARN libre ont été détecté aussi bien dans les exosomes que dans les microparticules du surnageant de cultures des cellules JEG-3. Le traitement à la DNAse a permis de montrer la localisation intravésiculaire des ANECs.

L'utilisation d'une gamme plasmidiques d'étalonnage a permis une quantification absolue des miARN exosomaux vésiculaires Le niveau d'expression des miARNs a été mesuré dans les exosomes et les microparticules (180,98 vs 62,87 pg/ug de protéine).

Cette étude a donc montré que les acides nucléiques libres (ADN, ARN et miRNA) peuvent être isolés à partir des vésicules circulantes notamment des exosomes fœtaux, et constituer une source de matériel génomique spécifique pour un diagnostic prénatal non invasif.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P478 - QUANTIFICATION DE L'ADN EXTRACELLULAIRE, FŒTAL ET TOTAL, DANS LE SANG MATERNEL : RELATIONS AVEC CERTAINES PATHOLOGIES FŒTALES OU MATERNO-FŒTALES

F Lombardini (1), M Tsochandaridis (2), L Nasca (2), F Bretelle (3), C D'Ercole (3), C Toga (1), J Gabert (1), A Levy-Mozziconacci (4)

1. Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Unité Biologie Materno-fœtale, Hôpital Nord, APHM, Aix-Marseille Université, Marseille, France
2. Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Unité Biologie Materno-foetale, Hopital Nord, APHM, Aix-Marseille Université, Marseille, France
3. Service Gynécologie Obstétrique, Hopital Nord, Marseille, France
4. Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Unité Biologie Materno-foetale, Hôpital Nord, APHM, Aix-Marseille Université, Marseille, France

Lors de la grossesse, une fraction d'ADN fœtal est retrouvée dans le plasma maternel (3-6%) et constitue aujourd'hui la source du diagnostic prénatal non invasif sur sang maternel (génotypage rhesus fœtal et diagnostic de sexe fœtal). Certains auteurs ont pu montrer une corrélation entre la quantité d'ADN fœtal circulant et la présence d'un fœtus trisomique 21. Une étude réalisée par nos soins a permis de mettre en évidence une augmentation significative de la quantité d'ADN fœtal et plasmatique (total) en présence d'un retard de croissance intra-utérin (RCIU) d'origine vasculaire (Al Nakib et al. 2009). Nous présentons une étude plus large dont l'objectif a été de quantifier l'ADN fœtal et total libre circulant dans le sang maternel lors de la découverte de certaines pathologies fœtales ou materno-fœtales, en particulier basées sur des signes d'appel échographiques.

Les taux d'ADN fœtal et total dans le plasma et le sérum seront mesurés par PCR quantitative en temps réel, en utilisant les gènes SRY (ADN fœtal) et β-globine (ADN total). Des échantillons de sang ont été collectés chez 74 patientes enceintes d'un fœtus unique et de caryotype normal dans le service de Gynécologie-Obstétrique de l'Hôpital Nord à Marseille. Ces 74 cas ont été divisés en 5 groupes : ceux présentant un triple test élevé ≥ 1/250 (23), une clarté nucale élevée ≥ 3 mm (9), un RCIU avec (10) et sans prééclampsie (18), une malformation cérébrale fœtale (14). Les 74 témoins sont des patientes enceintes RH-1, pour lesquelles il a été nécessaire de rechercher la présence d'ADN fœtal pour déterminer le statut RH1 fœtal. Ces 74 témoins présentent un fœtus unique de caryotype normal et une grossesse d'évolution normale à Rhésus D positif. Chaque cas est apparié à un témoin en fonction de l'âge gestationnel.Le test de Wilcoxon a été utilisé pour comparer les médianes des groupes cas et témoins.

Les taux d'ADN total plasmatique sont significativement plus élevés chez les patientes présentant une CN ≥ 3 mm (p=0,008), des malformations cérébrales fœtales (p=0,019), un RCIU avec (p=0,007) ou sans HTA ou prééclampsie (p=0,016). Les taux d'ADN fœtal plasmatique sont significativement plus importants chez les patients présentant une CN ≥ 3 mm (p=0,028), un TT ≥ 1/250 (p=0,004), des malformations cérébrales fœtales (p=0,005) ou un RCIU isolé (p=0,013).

Ces résultats montrent une corrélation entre les taux d'ADN fœtal et/ou total, extracellulaires et les pathologies fœtales ou materno-fœtales ou des facteurs de risques : CN élevée, RCIU, malformations cérébrales fœtales. Ces résultats permettent d'envisager l'existence d'anomalies de la placentation entraînant un relargage plus important de matériel foeto-placentaire dans la circulation maternelle, dans les cas de pathologies fœtales. Cependant, ces résultats obtenus sur des petites séries nécessitent d'être compléter par des études plus larges dans le cadre d'analyses multicentriques.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P479 - GENOTYPAGE DU RHESUS D FOETAL SUR PLASMA MATERNEL EN ROUTINE AU PREMIER TRIMESTRE DE GROSSESSE : DEUX ANS D'EXPERIENCE EN REGION PACA

M Tsochandaridis (1), N Burles (2), M Elbaz (2), L Nasca (1), A Ben lassoued (2), L Boubli (3), C D'Ercole (3), J Gabert (2), A Levy-Mozziconacci (4)

1. Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Unité Biologie Materno-foetale, Hopital Nord, APHM, Aix-Marseille Université, Marseille, France
2. Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Unité Biologie Materno-fœtale, Hôpital Nord, APHM, Aix-Marseille Université, Marseille, France
3. Service Gynécologie Obstétrique, Hopital Nord, Marseille, France
4. Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Unité Biologie Materno-foetale, Hôpital Nord, APHM, Aix-Marseille Université, Marseille, France

Nous rapportons l'activité de génotypage du Rhésus D fœtal sur sang maternel proposé aux femmes enceintes Rhésus D négatif de la Région PACA pendant la période 2009-2010. 5412 plasmas de femmes enceintes ont été analysés à partir de 7 semaines d'aménorrhée. L'extraction d'ADN a été réalisée avec l'automate Easymag™ (Biomérieux) Les exons 5, 7 et 10 du gène RHD ainsi que le gène de la b-globine ont été analysés par PCR quantitative multiplex (Taqman 7900™) et quantifiés à l'aide de calibrants plasmidiques. Un prélèvement de contrôle n'est demandé que pour les analyses réalisées avant 10 semaines de grossesse pour les fœtus RhD négatif. Les résultats de génotypage ont été comparés au phénotype RhD à partir du sang de cordon à la naissance.

L'analyse des données montrent que 30% (n=1626) des analyses sont réalisées au premier trimestre, 62% (n=3351) au deuxième trimestre et 8% (n=435) au troisième trimestre. La sensibilité est de 99,74%, la spécificité de 99,24% et l'exactitude de 99,57%. Aucune différence significative statistiquement n'a été observée entre les résultats obtenus au premier, deuxième et troisième trimestre. La présence de polymorphisme RhD a été détectée dans 6% de la population analysée. Les polymorphismes RhD ont été typés par séquençage. Le génotypage RhD fœtal n'a pas pu être déterminé pour les patientes possédant un polymorphisme RhD de type Dfaible/Dpartiel c'est-à-dire dans 0,96% dans le cadre de notre stratégie d'analyse. Ces résultats permettent de proposer cette analyse au 1er trimestre de la grossesse en même temps que la prescription des marqueurs sériques du dépistage de la Trisomie 21 pour les femmes enceintes RhD négatif de manière systématique.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P480 - EXOSOMES : LA NOUVELLE VOIE DU DIAGNOSTIC PRENATAL NON-INVASIF ?

L Nasca (1), M Tsochandaridis (1), L Hajun (2), c Levêque (3), C D'Ercole (4), J Gabert (2), A Levy-Mozziconacci (5)
1. Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Unité Biologie Materno-foetale, Hopital Nord, APHM, Aix-Marseille Université, Marseille, France
2. Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Unité Biologie Materno-fœtale, Hôpital Nord, APHM, Aix-Marseille Université, Marseille, France
3. Plateforme BIACORE, IFR Nord, Marseille, France
4. Service Gynécologie Obstétrique, Hopital Nord, Marseille, France
5. Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Unité Biologie Materno-foetale, Hôpital Nord, APHM, Aix-Marseille Université, Marseille, France

Durant la grossesse, les cellules placentaires relarguent dans la circulation sanguine maternelle des acides nucléiques libres (ANEC) (3-6%) source privilégiée du diagnostic prénatal non invasif. Du fait de la faible quantité d'ANEC fœtaux circulants et du chimérisme fœto-maternel plasmatique, seules les analyses concernant un gène non présent chez la mère (diagnostic de sexe fœtal, génotypage rhésus fœtal chez les mère RhD négatif) sont disponibles en routine actuellement. La mise en évidence de sécrétion par les cellules placentaires de vésicules (microparticule et exosome) contenant du matériel génomique, nous apparait comme une voie très intéressante d'enrichir dans le plasma maternel la fraction d'ANEC fœtaux. L'objectif de notre étude est d'évaluer la fraction vésiculaire (microparticule, exosome) des ANEC présent dans le plasma maternel. Pour cela nous avons sélectionné 27 échantillons plasmatiques provenant de femmes enceintes RhD négatif (>30 SA) avec fœtus RhD positif. Deux méthodes d'enrichissement des exosomes ont été testées (protocole d'ultracentrifugation vs kit commercial Exoquick™.)

La fraction microparticulaire a été isolée par centrifugation. Après une étape d'extraction (Biomérieux Easymag™), chaque fraction plasmatique (exosome, microparticule, extravésiculaire) a été analysée par PCR quantitative en temps réel. L'ADN plasmatique (total) représenté à 97% d'ADN maternel a été quantifiée par l'analyse du gène ubiquitaire (b-globine) et l'ADN fœtal par l'analyse du gène RhD (exon 10). Une analyse statistique (t-test) a été réalisée.

L'étude des fractions des ANEC plasmatiques par centrifugation/ultracentrifugation a montré une répartition différente entre l'ADN total (97% d'origine maternel) et l'ADN fœtal. Ainsi, si les ANEC plasmatiques d'origine maternelle sont répartis de façon équivalente dans les différentes fractions étudiées (exosome= 31%, microparticule= 35%, extravésiculaire=34 %) il n'en est pas de même pour les ANEC fœtaux pour lesquels la fraction microparticulaire est extrêmement faible (exosome= 55%, microparticule= 4.5%, extravésiculaires=41.5 %)

L'analyse comparative des deux protocoles d'isolement des exosomes (ultracentrifugation et Exoquick™) a montré un enrichissement 20 fois supérieur pour l'ADN fœtal avec le kit commercial (p=0.003, médiane Exoquick™=6257 copies/mL, médiane ultracentrifugation=371 copies /mL).

Cette étude préliminaire nous permet d'envisager une étude d'isolement des exosomes fœtaux dans le sang maternel par technique Biacore afin d'analyser la fraction génomique d'origine exclusivement fœtale et permettre une nouvelle approche du diagnostic prénatal non invasif.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P481 - INTERET DE LA CGH-ARRAY DANS LES TRANSLOCATIONS CYTOGENETIQUEMENT EQUILIBREES DETECTEES IN UTERO. A PROPOS D'UNE OBSERVATION.

A Paubel (1), S Blesson (2), C Le Caignec (3), H Dessuant (4), C Fallet-Bianco (5), C Paillet (6), V Himily (2), J Potin (7), E Simon (7), A Toutain (1)

1. Service de Génétique, INSERM U930, Faculté de Médecine, Université François Rabelais, CHU Bretonneau, Tours, France
2. Service de Génétique, CHU Bretonneau, Tours, France
3. Service de Génétique, Hôtel Dieu, Nantes, France
4. Laboratoire de Cytogénétique, BIOMNIS, Paris, France
5. Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Sainte Anne, Paris, France
6. GIM, Service des Ultrasons, CHU Bretonneau, Tours, France
7. Unité de Médecine Foetale, CHU Bretonneau, Tours, France

La découverte anténatale d'une translocation cytogénétiquement équilibrée pose de difficiles problèmes d'interprétation et de conseil génétique. Le risque de déficience intellectuelle associé à ces remaniements est estimé à environ 6% en cas de remaniement avec 2 points de cassure et environ 23% en cas d'anomalie complexe (au moins de trois points de cassure). Il est alors recommandé de faire une surveillance échographique minutieuse à la recherche de malformations qui pourraient signer un déséquilibre cryptique et justifier une interruption médicale de grossesse (IMG). Lorsque l'échographie est normale la grossesse est souvent poursuivie. En revanche en cas de signes non spécifiques, tel un retard de croissance intra-utérin (RCIU), l'équipe médicale est confrontée à de difficiles problèmes décisionnels. L'avènement des nouvelles technologies permettant de détecter des remaniements cryptiques a montré que nombre de translocations cytogénétiquement équilibrées sont en fait déséquilibrées. Pour le moment cependant ces techniques posent encore des problèmes d'interprétation et ne sont pas disponibles en routine pour le diagnostic prénatal.

Nous rapportons une observation où la technique de CGH-array nous a permis d'explorer une double translocation réciproque équilibrée détectée in utero et de donner un conseil génétique approprié aux parents. Il s'agissait de la 1e grossesse d'un couple non apparenté sans antécédents particuliers. Devant un RCIU asymétrique détecté à 21 SA, isolé mais non expliqué et s'accentuant progressivement, une étude du caryotype fœtal sur liquide amniotique à 29 SA a mis en évidence deux translocations réciproques équilibrées survenues de novo [caryotype 46,XY,t(2;3),t(5;12)]. Une peinture chromosomique avec les sondes des 4 chromosomes impliqués a montré qu'il s'agissait en fait d'un remaniement plus complexe avec insertion d'un petit fragment de chromosome 5 dans le dérivé du 3, mais sans pouvoir préjuger à ce stade de l'existence d'un déséquilibre. L'étude en CGH-array (puce Agilent® 44K) a révélé une délétion interstitielle d'environ 2,6 Mb au niveau du point de cassure sur le chromosome 12 en 12q14.3q15, emportant 12 gènes. L'étude en FISH a confirmé ce résultat chez le fœtus. L'étude des parents était normale. Ces résultats, associés à la majoration du RCIU (inférieur au 3e percentile), étaient en faveur d'un déséquilibre génomique responsable d'une pathologie fœtale avec risque d'atteinte neurologique. Après information, le couple a opté pour une IMG. L'examen foetopathologique a confirmé le RCIU et l'examen neuropathologique a montré une gliose astrocytaire dense de la substance blanche et un retard de maturité au niveau du cortex visuel primaire. Cette observation illustre la puissance des nouvelles technologies de génétique moléculaire pour la détection des déséquilibres cryptiques et confirme les données récentes qui montrent que beaucoup de translocations apparemment équilibrées sont en fait déséquilibrées.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P482 - DIAGNOSTIC PRENATAL, DIAGNOSTIC PRE-IMPLANTATOIRE ET NEOPLASIE ENDOCRINIENNE MULTIPLE DE TYPE 2A : UNE PROBLEMATIQUE DELICATE.

C ABADIE (1), C JULIAN-REYNIER (2), C JEANDEL (3), I RAINGEARD (4), T ANAHORY (5), D STOPPA-LYONNET (6), I COUPIER (7)

1. Unité d'Oncogénétique, CRLCC Val d'Aurelle, Montpellier, France
2. UMR 912, INSERM, IRD, Institut Paoli Calmettes, Université d'Aix Marseille, Marseille, France
3. Unité d'Endocrinologie-Gynécologie Pédiatrique, Service de Pédiatrie 1, CHU Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
4. Département d'Endocrinologie, CHU Lapeyronie, Montpellier, France
5. Département de Médecine et Biologie de la Reproduction, CHU Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
6. Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Université Paris Descartes, Paris, France
7. Unité d'Oncogénétique, CRLCC Val d'Aurelle, CHU Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

La néoplasie endocrinienne multiple de type 2A (NEM2A) est une affection de transmission autosomique dominante prédisposant à un risque majeur de carcinome médullaire de la thyroïde (CMT) (proche de 100%), de phéochromocytome (>50%) et d' hyperparathyroïdie primaire (15-30%). La NEM2A est liée à des altérations activatrices de l'oncogène RET. Des corrélations génotype-phénotype ont été décrites vis-à-vis du risque de CMT. Les altérations au niveau du codon 634 (exon 11) sont notamment associées à un risque élevé de CMT : une thyroïdectomie prophylactique est ainsi recommandée avant l'âge de 5 ans.

Nous rapportons l'histoire d'une famille présentant une NEM2A liée à une mutation RET, au codon 634 (p.Cys634Trp).

Un diagnostic pré-symptomatique est réalisé chez les 2 fils (âgés de 4 ans et 7 mois) d'un homme ayant développé un CMT à l'âge de 32 ans puis un phéochromocytome à l'âge de 40 ans dans le cadre d'une NEM2A. Le fils aîné est porteur de l'altération du gène RET familiale. La prise en charge médicochirurgicale est complexe à mettre en place chez cet enfant. La thyroïdectomie, d'abord refusée puis acceptée devant la présence de micronodules thyroïdiens échographiques, objective un microcarcinome thyroïdien.

Deux mois plus tard, une demande de diagnostic pré-implantatoire (DPI) spontanée émane de la part du couple. Le comité pluridisciplinaire de DPI et le CPDPN formulent une réponse défavorable à leur demande. Le couple s'oriente alors vers un autre centre français de DPI mais obtient la même réponse défavorable. Une grossesse spontanée conduit le couple à réaliser un diagnostic prénatal (DPN) en Espagne. L'embryon étant porteur de la mutation, une IVG est pratiquée, en France (12 semaines d'aménorrhée). Huit mois plus tard, une seconde grossesse spontanée conduit de nouveau le couple en Espagne pour un DPN. L'embryon n'étant pas porteur de la mutation, un enfant est né.

A partir de cette histoire familiale, nous discuterons des questions éthiques autour du DPN et DPI, encadrés par les aspects législatifs et réglementaires existant en France et en Europe, ainsi que de la complexité des indications de DPN et DPI.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P483 - TRISOMIE 2 EN MOSAÏQUE CONFINEE AU PLACENTA CHEZ UN FŒTUS PORTEUR D'UNE OMPHALOCELE

L Crouzet-Ozenda (1), A Angelozzi (1), A Chevallier (2), JC Lambert (1), V Paquis (1), H Karmous-Benailly (1)
1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Archet 2, Nice, France
2. Laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Hôpital Archet 2, Nice, France

L'omphalocèle, embryopathie due à l'absence de fermeture de la paroi ventrale de l'embryon avant 11 SA, a des origines multifactorielles. Elle peut rentrer dans le cadre de plusieurs syndromes polymalformatifs d'origine génétique notamment les trisomies 13, 18, 21.
Nous rapportons le cas d'une patiente de 22 ans dont la grossesse est marquée par la découverte à l'échographie du premier trimestre d'une omphalocèle sévère et d'un cordon ombilical court. Une amniocentèse est réalisée à 18 SA et le résultat du caryotype est le suivant : 46,XY. Après consultation auprès d'un chirurgien pédiatrique, les parents optent pour une interruption médicale de grossesse à 19 SA. L'examen foetopathologique confirme l'omphalocèle sans autre anomalie associée. L'examen des annexes montre un placenta sans anomalie macroscopique ou microscopique. L'analyse cytogénétique du placenta trouve une trisomie 2 en mosaïque (1 cellule sur 16 analysées). Afin de préciser le degré de mosaïcisme, une analyse en FISH est effectuée et retrouve 23% de cellules comportant une trisomie 2. Au vu de ce résultat, un contrôle, par FISH, sur les cellules amniotiques et sur les fibroblastes cutanés du fœtus est réalisé, de façon rétrospective, et ne retrouve pas de trisomie 2 pour ces lignées tissulaires. Il s'agit donc d'une trisomie 2 en mosaïque confinée au placenta.
La trisomie 2 homogène, fortement létale, est retrouvée dans 1% des fausses couches spontanées précoces (Sifakis et Al 2010). Les seuls cas potentiellement viables sont les trisomies 2 en mosaïque. Les fœtus qui en sont porteurs présentent une variabilité phénotypique allant d'un phénotype normal (faible mosaïque) à un retard de croissance intra utérin associé ou non à des malformations cardiaques, rénales, digestives ou cérébrales. La trisomie 2 en mosaïque représente 3 à 12 % des anomalies chromosomiques en mosaïque confinées au placenta. Peu de cas sont rapportés. Néanmoins, une étude rapporte 43 cas de trisomies 2 en mosaïque confinées au placenta : en anténatal, aucun signe échographique n'était décelable et, à la naissance, seuls 5 nouveaux-nés présentaient une hypotrophie. Ainsi, il semblerait que la trisomie 2 en mosaïque confinée au placenta n'est pas responsable de malformation foetoplacentaire. Cependant, un article rapporte un cas de trisomie 2 en mosaïque confinée au placenta chez un fœtus présentant un abdominoschisis avec éviscération du foie, de l'estomac et de l'intestin grêle, des anomalies osseuses, un cordon ombilical court avec une artère unique. Cette observation est l'occasion de faire le point sur une anomalie chromosomique rarement décrite, mais qui peut poser un problème d'interprétation lors de sa découverte.

POSTER
5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P484 - SEGREGATION MEIOTIQUE ET MARQUEUR CHROMOSOMIQUE SURNUMERAIRE.

MEIOTIC SEGREGATION AND SUPERNUMERARY MARKER CHROMOSOME.

A Perrin (1), MH Nguyen (1), B Delobel (2), N Guéganic (1), A Basinko (1), N Douet-Guilbert (1), MJ Le Bris (3), M De Braekeleer (1), F Morel (1)
1. Laboratoire de Cytogénétique, U613, Faculté de Médecine, Brest, France
2. Centre de génétique chromosomique, Hôpital Saint-Vincent de Paul, Lille, France
3. Service de Cytogénétique, Hôpital Morvan, Brest, France

Un marqueur chromosomique surnuméraire (MCS) est défini comme un chromosome additionnel de structure anormale dont la composition ne peut être déterminée par les techniques de cytogénétique conventionnelle. Au cours des dernières années, des résultats contradictoires ont été publiés sur l'équipement chromosomique des spermatozoïdes d'hommes porteurs d'un MCS. Les buts de ce travail sont de caractériser un MCS chez un homme infertile, d'étudier sa ségrégation méiotique et de faire la revue de la littérature.

Le couple consulte après quatre ans d'infertilité. Le bilan est sans particularité chez la femme alors que l'homme présente une oligoasthénotératozoospermie (OAT) sévère. Dans le cadre du bilan étiologique, son caryotype révèle la présence dans toutes les cellules d'un MCS (47,XY,+mar). La caractérisation moléculaire de ce MCS est effectuée par FISH d'une part, avec les sondes centromériques des chromosomes 14/22, 13/21 et 15 et, d'autre part avec les BACs RP11-14J7 (région 14q11.2), RP11-701M12 (région 22q11) et le plasmide pI90.22 (région 22p11.1).
L'analyse de la ségrégation méiotique est réalisée en triple FISH avec un pool de BACs localisé en 22q12.1, le plasmide pI90.22 et une sonde centromérique du chromosome 9. Une double FISH 13/21 est également effectuée.

Le marqueur chromosomique dérive d'un chromosome 22. La formule chromosomique du patient est 47,XY,+mar.ish der(22)(pI90.22+,D14Z1/D22Z1+,D13Z1/D21Z1-,RP11-14J7-,RP11-701M12-,D15Z4-).
En triple FISH, 80,7% des noyaux montrent un équipement chromosomique normal. La fréquence de spermatozoïdes déséquilibrés est de 19,3% dont 15,6% de spermatozoïdes porteurs du MCS. En double FISH, les fréquences de disomies 13 et 21 sont estimées à 0,45% chacune.

Dans la littérature, l'analyse de l'équipement chromosomique des spermatozoïdes de sept hommes avec un MCS a été effectuée par fécondation hétérospécifique (Martin et al. 1986) ou par FISH (Mennicke et al. 1997, Cotter et al. 2000, Wiland et al. 2005, Paetzold et al. 2006, Oracova et al. 2009). L'estimation de la fréquence de spermatozoïdes avec un MCS varie selon les patients de 6% à 50%. Théoriquement, la distribution d'un MCS dans les cellules germinales aboutit à un nombre identique de spermatozoïdes normaux et de spermatozoïdes avec le MCS. Les faibles taux de spermatozoïdes avec le MCS peuvent s'expliquer par la présence d'une mosaïque germinale ou du fait d'un mécanisme induisant une élimination pré-méiotique ou méiotique du MCS dans la majorité des cellules germinales chez ces patients.
D'autre part, les risques potentiels de malségrégation pouvant être liés à une interférence de ce MCS avec d'autres chromosomes (effet interchromosomique) semblent minimes.

En conclusion, du fait des faibles risques de déséquilibre chromosomique chez les fœtus liés aux MCS paternels d'une part et du risque d'avortement spontané lié à l'amniocentèse d'autre part, un diagnostic prénatal ne semble pas préconisé en l'absence d'autre facteur de risque.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P485 - FISH AND TIPS: AUTOMATED VERSUS MANUAL SCORING FOR SPERM ANEUPLOIDY DETECTION

L Bujan (1), F Devillard (2), S Hennebicq (3), M LeMitouard (3), G Martinez (3), V Satre (2), C Thomas (3)
1. CECOS, Hôpital Paule de Viguier, CHU de Toulouse, Toulouse, France
2. Génétique chromosomique, Département génétique-procréation, CHU de Grenoble, Grenoble, France
3. Laboratoire d'aide à la procréation - CECOS, Département génétique-procréation, CHU de Grenoble, Grenoble, France

Contexte : De nombreux facteurs influent sur la fertilité masculine mais les anomalies génétiques sont impliquées dans environ 15% des cas. Parmi celles-ci, les aneuploïdies sont des anomalies de nombre des chromosomes qui concernent environ 1% des spermatozoïdes éjaculés chez l'homme fertile. Il est bien documenté que ce taux augmente au sein des populations d'hommes subfertiles et infertiles. Le développement de la fécondation in vitro avec injection intra cytoplasmique de spermatozoïdes a révolutionné la prise en charge de l'infertilité masculine sévère mais soulève le problème du risque accru de transmission d'aneuploïdie à la descendance. L'hybridation in situ fluorescente ou FISH est une technique de cytogénétique qui utilise des sondes fluorescentes pour identifier des chromosomes spécifiques dans les cellules. L'analyse par FISH est une technique de plus en plus prescrite mais chronophage. Pour obtenir des résultats fiables, il faut analyser un grand nombre de cellules par un personnel entraîné. L'automatisation de cette technique sur cellules somatiques est opérationnelle et devrait être mise en place pour les spermatozoïdes. Cette étude présente les résultats obtenus sur une large cohorte de patients.

Objectifs : Comparer les taux d'aneuploïdies spermatiques obtenus en lecture manuelle et en lecture automatisée pour valider l'utilisation de l'automate (Metafer, Metasystem) pour la réalisation des techniques de FISH sur spermatozoïdes.

Méthodes : 101 patients consultant pour une congélation de gamètes avant vasectomie ou traitement ont été recrutés pour cette étude. Chaque recueil fait l'objet d'un spermogramme puis d'une analyse des aneuploïdies par technique FISH. 5000 spermatozoïdes ont été lus par patient : 2500 de façon manuelle et 2500 de façon automatisée avec vérifications des galeries d'acquisition.

Résultats : Au total, 502032 cellules ont été interprétées. Nos résultats ne montrent pas de différence statistiquement significative entre les taux d'aneuploïdies obtenus par les deux types de lecture (P=0.0617). Le degré de corrélation est bon, que l'on considère les taux d'aneuploïdies globaux (R^2=0.9558;P=0.9761), les anomalies des chromosomes sexuels (R^2=0,8009;P=0,1208), les disomies 18 (R^2=0,2237;P=0,4730) ou les diploïdies (R^2=0,174;P=0,4171). Les taux d'aneuploïdies observés concordent avec les données de la littérature. On observe une différence significative entre les taux d'aneuploïdie des échantillons ayant une concentration en spermatozoïdes ≥15M/ml et ceux dont la concentration est

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P486 - DECOUVERTE EN CGH-ARRAY D'UNE DELETION 18Q21.2Q21.31 EMPORTANT TCF4, CHEZ UN FŒTUS PRESENTANT UNE HYPOPLASIE DU CORPS CALLEUX ISOLEE.

N Marle (1), P Callier (1), AL Mosca-Boidron (1), C Thauvin-robinet (2), N Laurent (3), M Gérard (4), T Rousseau (5), A Masurel-Paulet (2), C Ragon (1), M Payet (1), L Faivre (2), F Mugneret (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, CHU Le Bocage, Dijon, France
2. Département de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon, France
3. Laboratoire d'Anatomo-Pathologie, CHU Le Bocage, Dijon, France
4. UF de Génétique clinique, CHU Robert Debré, Paris, France
5. Maternité, CHU Le Bocage, Dijon, France

Nous rapportons le cas d'un fœtus pour lequel la découverte échographique à 27 SA d'une agénésie subtotale du corps calleux associée à une dilatation ventriculaire cérébrale a conduit à une interruption médicale de grossesse à 29 SA + 3jours, après confirmation de la malformation à l'IRM cérébrale. Le caryotype fœtal réalisé à partir d'un prélèvement de liquide amniotique n'avait pas montré de déséquilibre (46,XY). L'examen foetopathologique a retrouvé un corps calleux très hypoplasique, mesurant 6 mm (pour une normale à 30 mm), ainsi qu'une hydrocéphalie biventriculaire chez un fœtus eutrophe, sans autre malformation associée. Une étude en CGH-array (Agilent®, 4x44K), réalisée à partir d'ADN extrait de tissus fœtaux a mis en évidence une délétion interstitielle du bras long d'un chromosome 18 : arr 18q21.2q21.31(49190680-52188365)x1. Une étude FISH sur métaphases issues de la culture de liquide amniotique, à l'aide de la sonde BAC RP11-344A12 a confirmé la délétion sur un des chromosomes 18. Cette délétion de 3 Mb comprend 10 gènes, dont le gène TCF4. Les contrôles parentaux ont montré que cette anomalie était survenue de novo.

Le gène TCF4 code pour un facteur de transcription b-HLH ubiquitaire. En 2007, deux équipes indépendantes ont relié son haplo-insuffisance au syndrome de Pitt-Hopkins. Ce syndrome, décrit pour la première fois en 1978, associe un retard psychomoteur sévère, une dysmorphie faciale caractéristique (énophtalmie, sourcils fins dans leur portion médiane, racine du nez large, philtrum court, macrostomie avec dents écartées et lèvre inférieure éversée) ainsi que des troubles respiratoires inconstants mais très évocateurs, à types d'accès d'hyperventilation diurnes, suivis d'épisodes d'apnée. Une épilepsie et des anomalies cérébrales, comme une hypoplasie du corps calleux sont fréquemment associées. Une revue de la littérature montre que sur la soixantaine de cas rapportés et explorés par des techniques moléculaires, une majorité résulte de mutations ou de délétions intragéniques et que moins d'un tiers a pour origine une microdélétion mise en évidence par CGH-array et incluant le gène TCF4. Il ne semble pas y avoir de variabilité phénotypique majeure entre les patients porteurs d'une mutation et ceux présentant délétion emportant plusieurs gènes ; ce qui suggère le rôle prépondérant de l'invalidation de TCF4 dans la survenue du phénotype. La réévaluation clinique a montré des signes dysmorphiques en faveur d'un syndrome de Pitt-Hopkins chez ce fœtus.

Cette observation est le premier cas de microdélétion incluant le gène TCF4, diagnostiquée à la suite de la découverte anténatale d'une anomalie du corps calleux. Ces résultats ont entrainé un conseil génétique rassurant pour les parents en ce qui concerne le risque pour les grossesses ultérieures. Cette observation fait poser la question d'une indication systématique de CGH-Array devant les agénésies/hypoplasies isolées du corps calleux.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P487 - MOSAÏCISME ET DIAGNOSTIC PREIMPLANTATOIRE : A PROPOS D'UN CAS DE CAVERNOMATOSE.

E KIEFFER (1), JC NICOD (1), A DIEUX (2), F RIANT (3), O PIRRELLO (4), P GOSSET (1), C MOUTOU (5)

1. Laboratoire de Biologie de la Reproduction, CMCO - Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, SCHILTIGHEIM, France
2. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, LILLE, France
3. Laboratoire de Génétique, AP-HP, Groupe hospitalier Saint Louis - Lariboisière - Fernand Widal, PARIS, France
4. Service de Gynécologie-Obstétrique, CMCO - Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, SCHILTIGHEIM, France
5. Laboratoire de Biologie de la Reproduction et Université de Strasbourg, CMCO - Hôpitaux Universitaires de Strasbourg et Université de Strasbourg, SCHILTIGHEIM, France

Les formes familiales de cavernomatose, représentant 20% des cas, sont transmises de manière autosomique dominante et impliquent majoritairement les gènes KRIT1, CCM2 et PDCD10. Les cavernomes cérébraux, malformations vasculaires, se manifestent en moyenne entre 20 et 30 ans par des crises convulsives et des hémorragies cérébrales. Il n'existe que des traitements symptomatiques.

Le couple sollicitant un DPI est composé d'une femme de 26 ans et d'un homme de 25 ans atteint de cavernomatose. L'étude moléculaire chez ce patient a révélé une mutation c.211dupA du gène PDCD10 qui entraine un décalage du cadre de lecture et l'apparition d'un codon stop prématuré.

L'existence d'une mosaïque a été suspectée devant la particularité du profil électrophorétique dans les leucocytes qui montre une prédominance de l'allèle sain, et a été confirmée par PCR quantitative. L'absence d'antécédents familiaux et la présence d'une mosaïque plaident en faveur d'une mutation de novo chez ce patient. Pour confirmer la possibilité d'une transmission, la présence de la mutation a été vérifiée dans l'ADN total de sperme. De plus, ce risque de transmission a été évalué par l'analyse de ségrégation sur spermatozoïdes isolés. L'existence de 3 haplotypes confirme le mosaïcisme germinal. La fréquence de l'haplotype lié à la mutation s'élève à 32% et autorise donc la prise en charge du couple en DPI. Par ailleurs, l'analyse des cellules haploïdes permet la prédiction des haplotypes attendus chez l'embryon avec une précision accrue. L'existence de spermatozoïdes portant un haplotype identique au niveau des marqueurs, associé ou non à la mutation, impose des précautions particulières quant au choix des embryons à transférer.

La stratégie de test comprend à la fois la recherche de la mutation et l'analyse de liaison de marqueurs microsatellites situés de part et d'autre de celle-ci. Deux marqueurs (PDCD10-IVS2, que nous avons identifié, et D3S1763) informatifs pour le couple ont été choisis pour le test et associés en PCR triplex à la recherche de la mutation. La technique a été mise au point sur les lymphoblastes du patient et de témoins. La stratégie choisie a permis de conclure au génotype correct dans tous les cas lors des séries de validation réalisées sur 100 lymphoblastes et 100 spermatozoïdes, ce qui est compatible avec son application en clinique.

Lors du premier cycle de DPI, 8 embryons ont été biopsiés et analysés : 5 étaient sains, deux atteints, et le dernier au résultat partiel. L'apparition d'un syndrome d'hyperstimulation a contre-indiqué le transfert d'embryon frais. Deux embryons ont pu être cryoconservés, et le transfert du seul embryon ayant résisté à la décongélation a échoué. Une nouvelle tentative est programmée.

Ce travail montre qu'en cas de mosaïcisme, l'analyse des spermatozoïdes est cruciale pour évaluer le risque de transmission et pour déterminer les haplotypes attendus et les précautions à prendre lors du DPI.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P488 - ETUDE DU POLYMORPHISME (CAG)N DE LA POLYMERASE GAMMA (POLG) CHEZ L'HOMME INFERTILE DANS LA POPULATION TUNISIENNE
STUDY OF THE POLYMORPHISM (CAG)N OF THE POLYMERASE GAMMA (POLG) IN INFERTILE MEN IN THE TUNISIAN POPULATION

S Baklouti (1), M Ghorbel (1), N Chakroun (2), A Sellami (2), F Fakhfakh (1), L Ammar Keskes (2)
1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie

Environ 10% des cas d'infertilité masculine sont dus à des causes génétiques. Les anomalies les plus fréquentes sont les aberrations chromosomiques et les anomalies géniques, essentiellement les microdélétions du chromosome Y, identifiées principalement chez les hommes azoospermiques et oligospermiques sévères. Récemment, la relation entre les anomalies mitochondriales et l'infertilité masculine a été bien documentée. En effet, il a été rapporté que le polymorphisme CAG du gène nucléaire POLG (15q25) de la polymérase gamma mitochondriale est associé à l'infertilité masculine dans certaines populations. L'objectif de ce travail était de rechercher une association entre le polymorphisme CAG du gène POLG avec l'infertilité masculine dans la population tunisienne.
L'étude du polymorphisme CAG du gène POLG a porté sur 216 patients infertiles et 123 hommes fertiles et a été faite par PCR, suivie d'un génotypage après électrophorèse sur gel d'acrylamide à 10% et dans certains cas par séquençage direct.
L'étude du polymorphisme CAG du gène POLG a montré conformément à certaines données de la littérature, une association entre ce polymorphisme et l'infertilité masculine. Nous avons trouvé que la majorité des patients infertiles (84,26%) et des hommes fertiles (97,6%) avait un nombre de répétition CAG égal à 10 (génotype homozygote 10/10). Cependant, les génotypes homozygote 10/ 10 et hétérozygote 10/ 10, étaient significativement plus fréquents chez les patients infertiles (4,6% et 11,11%, respectivement) que chez les patients fertiles (0,8% et 1,6%, respectivement).
L'analyse des données de l'étude moléculaire a montré une association entre le polymorphisme des répétitions CAG de la POLG et l'infertilité masculine dans la population Tunissienne.
Mot clés: polymorphisme CAG, gène POLG, infertilité masculine.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P489 - LA PRISE EN CHARGE DU DIAGNOSTIC PREIMPLANTATOIRE (DPI) A STRASBOURG : TOUT CE QUE VOUS SOUHAITEZ SAVOIR

C KASTNER (1), C CELEBI (2), I KOSCINSKI (2), MP BAILLY (3), I GALLAND (1), E KIEFFER (1), O PIRRELLO (3), C RONGIERES (3), C MOUTOU (2), P GOSSET (1)

1. Laboratoire de Biologie de la Reproduction – CMCO, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
2. Laboratoire de Biologie de la Reproduction – CMCO, Université de Strasbourg, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
3. Service de Gynécologie et Obstétrique - CMCO, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France

Le diagnostic Préimplantatoire (DPI) autorisé en France depuis 1999 est destiné à des couples à risque de donner naissance à un enfant atteint d'une maladie génétique particulièrement grave et incurable (CSP L.2131-4). Trois centres le pratiquent actuellement en France.

Nous présentons la prise en charge actuelle des couples adressés au centre de Strasbourg.

En vue de planifier un premier entretien téléphonique, le couple demandeur d'un DPI contacte directement notre secrétariat. Lors de ce premier contact des informations sur le DPI, la Fécondation In Vitro (FIV), et la procédure sont données. Un bilan de pré-FIV afin d'évaluer les chances d'obtenir des embryons en nombre suffisant par FIV est demandé. Le couple est adressé au généticien référent, notamment pour obtention de leur ADN et celui d'apparentés.

Le bilan pré-FIV est évalué en réunion pluridisciplinaire pour discuter de la faisabilité de la FIV.

Pour les pathologies monogéniques, une étude familiale par biologie moléculaire (BM) est réalisée. Un développement sur cellule unique sera nécessaire pour toute nouvelle indication.

Pour les anomalies chromosomiques, l'indication pour le remaniement impliqué est évaluée et la faisabilité technique est vérifiée dans un second temps par des tests d'Hybridation in Situ Fluorescente (FISH) à l'aide de sondes spécifiques.

Si les études préliminaires sont satisfaisantes, le couple est invité à se rendre à Strasbourg pour une consultation pluridisciplinaire. Il reçoit des informations sur le DPI et la FIV puis rencontre en consultations un praticien du DPI, une conseillère en génétique, un gynécologue, et une psychologue. La stratégie d'analyse spécifiquement choisie pour ce couple est expliquée à cette occasion.

Les demandes de DPI sont habituellement discutées après cette rencontre lors de sessions du Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal (CPDPN) de Strasbourg pour attestation de l'indication. Pour toute nouvelle pathologie ou requête particulière, le dossier est présenté au CPDPN avant toute analyse.

Dès que le dossier est complet, le couple contacte la sage-femme coordinatrice pour s'inscrire sur la liste d'attente des tentatives.

La tentative peut débuter à distance et le couple se rend à Strasbourg en fin de stimulation. La fécondation est réalisée par technique d'injection intra-cytoplasmique de spermatozoïde (ICSI).

Au 3ème jour, un ou deux blastomères par embryon sont prélevés puis analysés par BM ou FISH.

Le lendemain, les résultats sont rendus au couple par le praticien du DPI et le gynécologue, et un transfert peut être effectué. Les embryons transférables surnuméraires sont éventuellement cryoconservés au stade blastocyste.

Le couple nous informe du succès ou de l'échec de cette tentative et de l'évolution de la grossesse. En cas de souhait de nouvelle tentative, le dossier est systématiquement réévalué par l'équipe pluridisciplinaire.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P490 - DIAGNOSTIC PREIMPLANTATOIRE DU SYNDROME TRAPS

S Scheidecker (1), E Kieffer (1), C Kastner (1), G Plessis (2), C Dode (3), P Gosset (1), S Viville (4), C Moutou (5)
1. Laboratoire de biologie de la reproduction – CMCO, Hôpitaux Universitaires Strasbourg, Strasbourg, France
2. Service de Génétique, CHU de Caen, Caen, France
3. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Groupe Hospitalier Cochin – Saint-Vincent de Paul, Paris, France
4. IGBMC, IGBMC, Illkirch, France
5. Laboratoire de biologie de la reproduction – CMCO, Université de Strasbourg, Hôpitaux Universitaires Strasbourg, Strasbourg, France

Le syndrome TRAPS ou syndrome de fièvre périodique liée à un dysfonctionnement du récepteur de type 1A du TNF (tumor necrosis factor) est une maladie auto-inflammatoire rare, appartenant au groupe des fièvres récurrentes périodiques. Il se transmet sur le mode autosomique dominant et le gène responsable, situé en 12p13, code pour le récepteur de type 1A du TNF (gène TNFRSF1A).

Dans les formes graves le syndrome TRAPS débute très tôt dans l'enfance par des crises inflammatoires d'environ une semaine, accompagnées de taux très élevés de CRP. Les signes cliniques sont principalement des accès de fièvre accompagnés de myalgies, de pseudocellulites, de douleurs abdominales et d'arthralgies. La complication principale est l'amylose de type AA retrouvée dans environ 25% des cas et grevée d'un mauvais pronostic. Le traitement symptomatique repose sur la prise au long cours de traitements anti-inflammatoires et de nouvelles molécules telles que les anti-TNF.

Nous avons eu une demande de diagnostic préimplantatoire (DPI) d'un couple, au sein duquel Monsieur présente une symptomatologie sévère du syndrome TRAPS. Son histoire est en effet marquée par la survenue de complications telles qu'un retard statural secondaire à une malabsorption dans l'enfance, plusieurs péritonites aseptiques opérées et compliquées d'un syndrome du grêle court et une amylose secondaire avec atteinte rénale. Le diagnostic est évoqué tardivement et confirmé par la mise en évidence d'une des mutations récurrentes (p.T50M) dans le gène TNFRSF1A.

Ce couple a deux filles d'une grossesse gémellaire obtenue par FIV-ICSI (fécondation in vitro-injection intracytoplasmique de spermatozoïde) en raison d'une oligo-asthéno-tératospermie ; 7 embryons sont actuellement cryoconservés. L'une des filles est atteinte et présente des poussées inflammatoires nécessitant des hospitalisations répétées et un traitement au long cours.

Le couple ne veut plus risquer de transmettre le syndrome TRAPS à un futur enfant et ne souhaite pas recourir au diagnostic prénatal et à l'interruption médicale de la grossesse en cas de diagnostic défavorable chez le fœtus.

Après discussion au Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, cette demande est acceptée en raison de la particulière gravité de l'atteinte dans cette famille.

Nous avons développé un test par PCR multiplex sur lymphoblastes uniques (normaux et mutés) en utilisant la stratégie du D-ARMS (double allele-specific amplification) pour détecter la mutation et l'amplification de deux microsatellites (D12S889 et un que nous avons identifié) flanquant la mutation et informatifs pour le couple. La stratégie choisie permet de conclure au génotype correct dans 95 % des cas lors des séries de validation réalisées sur 73 lymphoblastes ce qui est compatible avec son application en clinique.

Nous pouvons donc proposer à ce couple une prise en charge en DPI pour le syndrome TRAPS, en utilisant initialement les embryons congelés issus de leur première tentative.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P491 - HOLOPROSENCEPHALIE ET DELETION INTERSTITIELLE 13Q31.2Q33.1 VARIABILITE PHENOTYPIQUE CHEZ DES JUMEAUX MONOZYGOTES

S Scheidecker (1), F Girard-Lemaire (1), V Kremer (1), N Calmels (2), M Kohler (3), B Gasser (4), C Dubourg (5), E Flori (1)
1. Service de cytogénétique, Hôpitaux Universitaires Strasbourg, Strasbourg, France
2. Laboratoire de diagnostic génétique, Hôpitaux Universitaires Strasbourg, Strasbourg, France
3. Service de gynécologie obstétrique – CMCO, Hôpitaux Universitaires Strasbourg, Strasbourg, France
4. Service de pathologie, Centre Hospitalier de Mulhouse, Mulhouse, France
5. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU Pontchaillou, Rennes, France

Les holoprosencéphalies (HPE) représentent les malformations les plus communes du système nerveux central. Elles résultent d'un défaut précoce de clivage du prosencéphale au cours de l'embryogenèse. Leur détection échographique est possible dès le premier trimestre de la grossesse et doit, en priorité, conduire à la réalisation d'un caryotype. En effet, dans 25 à 50 % des cas, des anomalies chromosomiques déséquilibrées sont retrouvées, parmi lesquelles des délétions du bras long du chromosome 13.

Nous rapportons l'observation d'une grossesse monochoriale biamniotique au cours de laquelle une HPE de type alobaire est découverte au premier trimestre chez l'un des jumeaux.

Les analyses cytogénétiques réalisées chez ce jumeau sur des cultures de cellules amniotiques mettent en évidence une délétion interstitielle du bras long d'un chromosome 13 dans la région 13q31q33. A 19 SA, alors que le jumeau porteur de l'HPE est décédé, une amniocentèse est effectuée chez l'autre jumeau. La même anomalie chromosomique est retrouvée chez lui, confirmant le monozygotisme des jumeaux. Compte-tenu du pronostic défavorable lié à cette anomalie chromosomique, même en l'absence d'HPE, une interruption médicale de la grossesse est réalisée à la demande des parents à 22SA. L'examen foetopathologique du jumeau porteur de l'HPE est peu contributif car il est papyracé; celui du deuxième jumeau révèle une dysmorphie faciale et des anomalies des pouces, mais pas d'anomalie cérébrale.

Une étude par CGH array des ADN des deux jumeaux confirme qu'ils sont tous deux porteurs d'un déséquilibre génomique identique; elle précise la localisation exacte du déséquilibre (en 13q31.2q33.1), sa taille (environ 14,7 Mb) et ne détecte pas d' autre variation du nombre de copies. Aucune mutation n'est mise en évidence par DHPLC et séquençage des 4 principaux gènes des HPE (SHH, ZIC2, SIX3 et TGIF) explorés chez le jumeau atteint d'HPE.

Le phénotype du jumeau sans HPE représente une des rares observations de délétion impliquant la région 13q32 et le gène ZIC2 situé dans cette région, mais ne comportant pas de malformation cérébrale. Toutefois, ce jumeau présente la dysmorphie faciale et les anomalies des pouces rapportées dans les délétions 13q32. Les anomalies des extrémités pourraient être en rapport avec la délétion de différents gènes (GPC-5, FARP1 et SOX21) localisés dans la région délétée.

La discordance phénotypique observée entre les jumeaux pourrait s'expliquer par l'existence, chez le jumeau porteur de l'HPE, d'une mutation post-zygotique survenue dans un gène plus rarement impliqué dans les HPE que les gènes explorés. Une autre hypothèse pourrait être, comme suggéré dans la littérature, l'intervention de facteurs épigénétiques différents chez les deux jumeaux.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P492 - PRENATAL BACS-ON-BEADSTM: ETUDE PROSPECTIVE MULTICENTRIQUE PRENATAL BACS-ON-BEADSTM: A WORLD MULTICENTRIC PROSPECTIVE EXPERIENCE

A Abourra (1), B Benzacken (2), P Bouhanna (3), S de Toffol (4), R Genesio (5), F Grati (6), N Horelli-Kuitunen (7), L Marcato (4), MC Martinez Romero (8), JA Martínez-Conejero (9), D Molina Gomes (3), C Oheix (3), K Piotrowski (10), T Popowski (3), G Queipo (11), j Roume (3), G Simoni (4), F Vialard (3)

1. Département de Cytogénétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. Département de Cytogénétique, Hopital Jean Verdier, Bondy, France
3. Département de Cytogénétique, Obstétrique et Gynécologie, CHI Poissy St Germain, Poissy, France
4. Unités de recherche et développement, TOMA Advanced Biomedical Assays, Busto Arsizio, Italie
5. Département de pathologie cellulaire et moléculaire, Université ''Federico II'', Naples, Italie
6. Unités de recherche et développement, Cytogénétique et Biologie Moléculaire, TOMA Advanced Biomedical Assays, Busto Arsizio, Italie
7. Unité de Cytogénétique, United Medix Laboratories, Helsinki, Finlande
8. Département de Cytogénétique, Iviomics, Valence, Espagne
9. Unité de Cytogénétique, Iviomics, Valence, Espagne
10. Unité de Cytogénétique, Université de Médecine Pomeranian, Szczecin, Pologne
11. Service de Génétique, Hopital General de México, Mexico, Mexique

Introduction: Précédemment, nous avons réalisé une étude de validation de la technologie Prenatal BACs-on-BeadsTM (PN-BoB) sur des échantillons dont le résultat cytogénétique était connu, et prospectivement sur environ 200 prélèvements. Cette technique s'appuie sur le multiplexage de billes spécifiques des séquences d'ADN permettant de détecter les aneuploïdies des chromosomes 13, 18, 21, X et Y et les 9 plus fréquents syndromes microdélétionnels. Dans cette étude, nous avons démontré que cette technique pourrait représenter dans l'avenir proche, une nouvelle approche dans le diagnostic cytogénétique prénatal. Nous rapportons ici l'expérience prénatale de 8 laboratoires de cytogénétique dont 7 européens.

Méthodes: 2211 échantillons ont été analysés. L'ensemble des résultats ont été confirmés par un caryotype classique ou une autre technique. Toutes les indications de diagnostic cytogénétiques ont été incluses, et il y a eu autant de ponction de villosités choriales que de liquide amniotique.

Résultats: Le taux d'échec technique est de 2.9%. Le taux global d'anomalies détectées a été d'environ ~1/10. 86.6% des anomalies détectés sont des aneuploïdies communes (13, 18, 21, X et Y). 22 microdélétions or duplications ont été retrouvées dont 6 auraient pu être retrouvées sur caryotype. Le taux de détection des anomalies cryptiques est donc de 1/140 en utilisant ce kit de dépistage des anomalies chromosomiques. Sur les 14 microdélétions ou duplications, 8 auraient pu être diagnostiquées par FISH suite à l'apparition d'un signe d'appel évocateur de syndromes connus. Au total, comparé à la FISH rapide et la Q-PCR, le kit PN-BoB a un taux de détection additionnel d'environ 1/275 dans les grossesses à bas risque. Le taux de faux positif et négatif sont inférieurs à 1%.

Conclusion: Combiné avec le caryotype constitutionnel, le kit PN-BoB présente l'avantage d'un diagnostic rapide des aneuploïdies avec une augmentation du taux de dépistage des syndromes microdélétionnels les plus fréquents non détectables par les techniques classiques. L'inclusion d'autres laboratoires de Cytogénétique pourra probablement nous permettre de définir le taux de détection additionnel du kit PN-BoB.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P493 - USEFULNESS OF NON INVASIVE DETERMINATION OF FETAL GENDER IN MATERNAL BLOOD DNA : A 3-YEAR EXPERIENCE AT COCHIN HOSPITAL

L Orhant (1), N Deburgrave (1), C Beugnet (1), F Leturcq (1), J Chelly (1), M Cossée (1)

1. 1 APHP, Laboratoire de biochimie et génétique moléculaire, GH Cochin, PARIS, France

The presence of free fetal DNA in maternal blood as early as the 5th week of pregancy is known for more than 10 years. In theory it is an ideal material for the non-invasive analysis of fetal status whenever the fetus is the only carrier of the marker. This is the case for the SRY gene which lends itself to an early detection of the fetal gender. However this test was not yet offered in the public hospital context of Assistance Publique-Hôpitaux de Paris. We set it up in 2008 a routine facility based upon the detection of an SRY sequence by Real time PCR amplification (using both Taqman and SYBRgreen probes technology). We present here our experience obtained from 108 requests for non invasive fetal gender diagnosis. Altogether it was correctly ascertained in all cases (53 females, 55 males) confirmed by systematic ultrasonography or karyotyping. In 3 cases results were not conclusive on the initial sample, necessitating reiteration of blood sampling. The indications belong to the following three categories : (i) prenatal diagnosis of X-linked monogenic diseases (DMD, hemophilia, myotubular myopathy, Fragile X, adrenoleukodystrophy, poly-ectodermic dysplasia, Rett syndrome ...), representing 88% of cases (ii) early in utero prevention of masculinization of a female fetus in a context of congenital adrenal hyperplasia 6% of cases); (iii) gender assessment in a context of echographic signs of ambiguous genitalia (6% of cases) . The optimal period to obtain an adequate amount of fetal DNA is 8 weeks of pregnancy. However in the peculiar context of possible congenital adrenal hyperplasia , an earlier answer is required to initiate the treatment before 6 weeks of pregnancy. In all cases referred to us (7 cases) the fetal gender status could be assessed in time.
We confirm that this non invasive method is reliable, and is applicable whenever gender determination is needed. It therefore supersedes the classical invasive methods for gender determination (CV sampling and amniocentesis). However it must be emphasized that the method requires stringent experimental conditions : male-free environment, skilled personnel, impeccable organization, dedicated equipment. Ideally the approach lends itself to other applications such as : early detection of mutated alleles of dominant autosomal diseases when carried by the father, molecular detection of aneuploidies , detection of recurrence due to germinal mosaicism for FGFR3.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P494 - DIAGNOSTIC ANTENATAL PROSPECTIF DE MICROREMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES CHEZ 30 FŒTUS AVEC SYNDROMES MALFORMATIFS COMPLEXES PAR HYBRIDATION GENOMIQUE SUR PUCES A ADN.

C Coubes (1), J Puechberty (1), N Bigi (1), P Blanchet (1), M Girard (2), E Haquet (1), G Lefort (2), F Pellestor (2), MJ Perez (1), L Pinson (1), P Sarda (1), A Schneider (2), S Taviaux (2), M Tournaire (2), M Willems (1), D Geneviève (1)

1. Département de Génétique Médicale, Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

2. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

L'analyse par puces à ADN de patients présentant un retard mental et des malformations multiples est rapportée dans la littérature avec un taux attendu de microremaniements chromosomiques entre 8 et 15%. D'autres études ont été faites au cours de la période prénatale mais rétrospectivement dans le cadre de la fœtopathologie. Ces études retrouvent un taux de microremaniements quasiment semblable au postnatal.

Notre étude a consisté à rechercher prospectivement des microremaniements chromosomiques par puces à ADN à partir de l'analyse des cellules amniotiques chez 30 fœtus porteurs d'au moins 2 malformations concernant 2 territoires différents, avec caryotype conventionnel normal sur une période de 36 mois. L'analyse a été faite indépendamment de la surveillance de la grossesse et n'intervenait pas dans la décision du devenir de la grossesse, les résultats étant rendus après une éventuelle interruption médicale de grossesse ou la naissance. L'information avait été donnée aux parents pour solliciter leur participation et leur consentement.

Nous avons utilisé la puce « Genome-Wide Human SNP Array 6.0 » d'Affymetrix comportant des marqueurs de type SNP et CN pour détecter des variations du nombre de copies (CNV, copy number variations). La validation des CNV identifiés comme potentiellement pathogènes a été faite par des techniques de FISH et/ou de qPCR sur les ADN fœtal et parentaux.

Nos buts étaient principalement de tester la faisabilité du protocole dans le cadre du diagnostic prénatal, secondairement de dépister des microremaniements associés à ces malformations et de proposer un conseil génétique adapté aux parents, afin d'éviter la récurrence d'un handicap majeur lors d'une future grossesse.

L'analyse préliminaire des résultats montre un taux de remaniements de 6,7% (2/30) avec deux cas de délétion 22q11.2 de novo de présentation échographique atypique. Nous avons identifié en moyenne 24,7 CNV par échantillon (écart type 12,3) avec 4 faux positifs (anomalies non validés par FISH et/ou qPCR).

L'introduction prochaine des puces à ADN en diagnostic prénatal constitue une avancée importante en termes de gain diagnostique. L'interprétation est cependant rendue plus difficile en présence de CNV non décrits ou peu fréquents, éventuellement transmis, pour lesquels l'implication pathologique est incertaine, et en présence d'anomalies intéressant un gène de cancer pouvant conduire à un diagnostic pré-symptomatique. Certaines équipes envisagent la construction de puces à ADN dédiées au diagnostic prénatal couvrant les régions de remaniements cytogénétiques connus et excluant les gènes de cancer. Cette démarche fait actuellement l'objet de discussions.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P495 - DIAGNOSTIC ECHOGRAPHIQUE ANTENATAL D'UN SYNDROME 48,XXYY : A PROPOS D'UN CAS

S Kemeny (1), C Goumy (1), C Pebrel-Richard (2), M Gay-Bellile (1), L Gouas (1), L Véronèse (3), D Lemery (4), A Tchirkov (3), P Vago (1)

1. Cytogénétique Médicale/Fac Médecine, Histologie Cytologie Embryologie Cytogénétique, CHU Clermont-Ferrand/Univ Clermont 1, Clermont-Ferrand, France
2. Cytogénétique Médicale, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
3. Cytogénétique Médicale/Fac de Medecine, Histologie Cytologie Embryologie Cytogénétique, CHU Clermont-Ferrand/Univ Clermont 1, Clermont-Ferrand, France
4. Unité de Médecine Foetale/Fac Médecine, CHU Clermont-Ferrand/Univ Clermont 1, Clermont-Ferrand, France

Le syndrome 48,XXYY est une anomalie chromosomique extrêmement rare dont l'incidence est estimée entre 1:18000 et 1:40000. Ce syndrome, décrit comme un variant du syndrome de Klinefelter, est généralement diagnostiqué après la naissance. Malgré une expression phénotypique variable, des difficultés du développement neurologique et psychologique sont toujours présentes. Si une centaine de cas a été rapportée en postnatal, seuls trois cas ont été décrits en prénatal. Il s'agissait pour tous d'une découverte fortuite, au décours d'un diagnostic prénatal réalisé en dehors de tout signe d'appel échographique : deux diagnostics prénataux réalisés pour convenance personnelle et un pour signe d'appel biologique (taux sériques maternels d'alpha-foetoprotéine bas).

Nous rapportons, pour la première fois, un cas de syndrome 48,XXYY découvert en prénatal dans un contexte de polyhydramnios avec pieds bots bilatéraux identifiés à l'échographie du deuxième trimestre. Les trois précédents cas décrits dans la littérature, en prénatal, ont tous conduit à une interruption médicale de grossesse. La description de cas supplémentaires, en prénatal, permettrait de mieux définir la présentation échographique et ainsi d'améliorer les chances de détection de ce syndrome, in utero et d'optimiser la qualité du conseil génétique.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P496 - ACCIDENT VASCULAIRE CEREBRAL HEMORRAGIQUE ET MUTATION DANS LE GENE COL4A1: A PROPOS DE 2 OBSERVATIONS PRENATALES
HEMORRHAGIC STROKE AND MUTATION IN COL4A1: ABOUT TWO PRENATAL OBSERVATIONS

d Bonneau (1), f Boussion (2), e Colin (3), a guichet (4), M Mine (5), e riant (6), e Tournier lasserve (7), a ziegler (4)
1. genetique, Hopital, angers, France
2. Gynéco obstétrique, Hopital, Angers, France
3. service de génétique, Hopital, angers, France
4. genetique, hopital, angers, France
5. Centre de Référence pour les maladies rares des Vaisseaux du Cerveau et de l'œil, Hôpital Lariboisière, Paris, France
6. Centre de Référence pour les maladies rares des Vaisseaux du Cerveau et de l'œil, HopitalLariboisiere, paris, France
7. Centre de Référence pour les maladies rares des Vaisseaux du Cerveau et de l'œil, Hopital lariboisiere, Paris, France

Le gène COL4A1 code pour la chaîne alpha-1 du collagène IV, élément majeur des membranes basales. Des mutations dans le gène COL4A1 ont été associées à des hémorragies cérébrales périnatales ou des porencéphalies. Par ailleurs, les mutations dans COL4A1 ont été impliquées dans un large spectre clinico-pathologique avec atteinte de différents systèmes comme le cerveau, l'œil, le rein et le muscle et avec une grande variabilité dans leur gravité. Nous rapportons 2 observations foetales d'hémorragies cérébrales associées à une cataracte et avec la mise en évidence d'une mutation hétérozygote du gène COL4A1.

Première observation: mise en évidence chez un fœtus à l'échographie de 23 SA+ 4 jours, d'une cataracte droite associée à une ventriculomégalie gauche et une lésion hyperéchogène sous la corne frontale gauche. L'IRM cérébrale fœtale confirmera les lésions d'hémorragie sous épendymaire.

Deuxième observation: mise en évidence chez un fœtus à l'échographie de 31 SA, d'une lésion hyperéchogène à centre kystique au niveau de la substance blanche de l'hémisphère gauche avec des lésions hyperéchogènes sur les thalamis, évoquant des calcifications et associée à une cataracte bilatérale. L'IRM a confirmé les signes précédemment décrits évocateurs d'hémorragie cérébrale.

Dans les 2 cas, après discussion pluridisciplinaire avec le couple une interruption médicale de grossesse a été réalisée. L'examen neuropathologique sera détaillé. Une recherche, a posteriori, de mutation dans le gène COL4A1 a mis en évidence une mutation hétérozygote sur l'exon 36 et 30 respectivement,identiques à celles décrites chez des adultes.

En conclusion, en prénatal, il nous semble indiqué de rechercher une mutation du gène COL4A1 devant la découverte d'un accident vasculaire cérébral hémorragique avec bilan étiologique négatif, surtout s'il est associé à des anomalies oculaires et en particulier une cataracte.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P497 - ETUDE DES POLYMORPHISMES DE L'ADN MITOCHONDRIAL CHEZ L'HOMME INFERTILE DANS LA POPULATION TUNISIENNE

STUDY OF POLYMORPHISMS IN THE MITOCHONDRIAL DNA IN INFERTILE MEN IN THE TUNISIAN POPULATION

S Baklouti (1), M Ghorbel (1), N Chakroun (2), A Sellami (2), F Fakhfakh (1), L Ammar Keskes (2)
1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie

Ces dernières années et avec le développement des recherches sur les maladies mitochondriales, plusieurs études ont montré l'implication des anomalies mitochondriales dans l'infertilité masculine, particulièrement chez les patients ayant des troubles de la mobilité spermatique. Ces anomalies sont liées à des polymorphismes ou mutations/délétions de gène mitochondriaux, codant pour certaines protéines de la chaîne respiratoire mitochondriales, intervenant dans la phosphorylation oxydative et la production d'ATP, nécessaire à la mobilité spermatique. En Tunisie, aucune étude n'a été réalisée sur la relation entre les anomalies mitochondriales et l'infertilité masculine. Dans le but de contribuer à l'étude de l'implication des variations (polymorphismes/mutations) de l'ADN mitochondrial dans les anomalies du sperme, nous avons entrepris une étude génétique chez des hommes infertiles portant sur quatre gènes mitochondriaux.

L'étude a porté sur 21 patients infertiles (11 patients asthénospermiques et 10 normospermiques) qui ont bénéficié d'un spermogramme (selon la méthode standardisée de l'OMS) et d'une analyse génétique par PCR de l'ADN lymphocytaire, en utilisant 5 couples d'amorces, amplifiant 4 gènes mitochondriaux COXI, COXII, ATPase6 et Cytb, suivie par un séquençage automatique à l'aide du séquençeur ABI3100.

Le résultat du séquençage nous a permis de déceler 38 polymorphismes déjà décrits dans d'autres populations et 6 nouveaux polymorphismes, non décrits dans les études antérieures (2 dans COXI, 2 dans ATPase6 et 2 dans Cytb). Deux des nouveaux polymorphismes trouvés dans COXI et ATPase6 induisent un changement d'acide aminé dans les protéines correspondantes et ont concerné 3 patients asthénospermiques. Parmi les polymorphismes déjà décrits, 5 induisent un changement d'acide aminé et ont concerné également des patients asthénospermiques (3 dans ATPase6 et 2 dans Cytb). Les autres polymorphismes trouvés dans notre population d'étude n'induisent pas de changement d'acides aminés et ont été observés aussi bien chez les patients normospermiques qu'asthénospermiques.

Nos résultats préliminaires semblent indiquer que certains polymorphismes induisant un changement d'acides aminés sont impliqués dans l'altération de la mobilité spermatique, puisque ils sont absents chez les patients normospermiques. Ils semblent indiquer aussi que les polymorphismes n'induisant pas de changements d'acides aminés (synonymes) sont relativement fréquents aussi bien chez les patients asthénospermiques que normospermiques. Cette étude devrait être poursuivie sur un nombre plus important de patients, afin de mieux caractériser les polymorphismes des gènes mitochondriaux et de déterminer leur degré d'implication dans l'asthénospermie et dans l'infertilité masculine.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P498 - TETRASOMIE 5P CONFIRMEE APRES LA DECOUVERTE PRENATALE D'UN SEUL CLONE ISO5P : A PROPOS DE 2 OBSERVATIONS.

MOSAIC TETRASOMY 5P CONFIRMED AFTER BIRTH FOLLOWING PRENATAL FINDING OF A SINGLE ISOCHROMOSOME 5P COLONY. A REPORT ON TWO CASES.

d Bonneau (1), f Boussion (2), e Colin (3), a guichet (4)

1. genetique, Hopital, angers, France
2. Gynéco obstétrique, Hopital, Angers, France
3. service de génétique, Hopital, angers, France
4. genetique, hopital, angers, France

Les observations rapportées d'isochromosome 5p ou tétrasomie 5p sont rares et associées à des signes cliniques très variés.

Nous rapportons 2 observations prénatales adressées pour des signes d'appel échographiques et pour lesquelles la tétrasomie 5p a été confirmée en postnatal.

Observation1 : Une amniocentèse est réalisée à 27SA devant l'association de pieds bots, d'un excès de liquide amniotique, d'un profil plat et des OPN courts. Le caryotype est répondu normal 46,XX sur 17 clones par méthode in situ. Devant la persistance d'un hydramnios un nouveau caryotype est réalisé 3 semaines plus tard qui met en évidence 1 clone parmi 14 avec un iso(5p) et 3 mitoses parmi 41 seront observées sur un flacon trypsiné. La grossesse est poursuivie avec la naissance d'une fille avec des pieds bots sévères. Le caryotype sanguin met en évidence 5% d'iso(5p) et sur les urines on retrouve 5% de noyaux urinaires non cultivés avec un iso(5p).

Observation 2 : une amniocentèse est réalisée à 33SA après la découverte d'un hydramnios isolé sans étiologie. Le caryotype montre un clone iso(5p) parmi 15 clones observés par méthode in situ. L'étude complémentaire sur 2 flacons (avec plus 20 clones) de 60 mitoses n'a pas retrouvé de mitose iso5p. Une petite fille est née phénotypiquement normal. Le caryotype sur sang et cordon a mis en évidence un caryotype 46,XX normal. A 3 ans devant la présence de zones hypopigmentées et d'un retard des acquisitions une biopsie de peau est réalisée en peau saine et atteinte ainsi qu'un frottis jugal. Il est mis en évidence 8% d'iso5p en peau saine ,13% en peau atteinte et 70% sur le frottis jugal par HIS.

Selon Hsu (1992), il faut observer le même remaniement de structure ou de nombre dans 2 flacons de culture indépendants pour parler de mosaïque. Dans notre première observation il s'agit d'une très faible mosaïque (avec un premier caryotype répondu normal) et dans le second cas il s'agit d'une pseudo mosaïque. A notre connaissance, seules 4 observations de mosaïque iso5p ont été découvertes en prénatal sur une culture de liquide amniotique tandis que la majorité des découvertes sur villosités choriales sont des mosaïques confinées au placenta. Le petit nombre d'observations prénatales et postnatales ne permet pas de décrire un syndrome bien caractérisé. Les 4 observations rapportées en postnatal ont un phénotype proche de la trisomie 5p avec macrocéphalie, cou court,pieds bots,cardiopathie,difficultés alimentaires et respiratoires,ventriculomégalie, hydrocéphalie, épilepsie et retard psychomoteur. La variabilité clinique est attribuée au pourcentage variable de l'iso5p et à sa distribution tissulaire. Pour nos 2 enfants âgés de 5 ans, la première a une hydrocéphalie opérée avec des pieds bots sévères et un retard psychomoteur sévère tandis que la seconde à un retard psychomoteur modéré.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P499 - LE DIAGNOSTIC PRENATAL DANS LES MALADIES A REVELATION TARDIVE OU A EXPRESSION VARIABLE : QUELLES MODALITES POUR LA PRISE DE DECISION ?

A MALLET (1), M GARGUILO (2), D VAUTHIER BROUZES (3), A AFENJAR (4), m ANHEIM (5), ML BABONNEAU (6), C BOUCHER (7), A BRICE (7), C CAZENEUVE (8), P CHARLES (9), P CHARRON (10), F CLOT (11), C COLAS (12), F COTTREL (13), AM DARRAS (14), M DOMMERGUES (15), A FAUDET (7), J FEINGOLD (5), S FOSSE (16), C GAUDEBOUT (5), A HERSON (5), A JACQUETTE (17), CC MICHON (5), F MOCHEL (7), S NOEL (5), O PHILIPPON (18), O ROSENBLUM (16), E SCHAERER (5), M TCHIKVILADZE (5), M WARCOIN (5), S WHALEN (19), A DURR (11), D HERON (20)

1. Département de Génétique et Cytogénétique ; Centre de Référence des Maladies Cardiaques Héréditaires, CHU Pitié Salpétrière, paris, France
2. département de génétique et cytogénétique, GH Pitié Salpétrière, Paris, France
3. service de gynécologie obstétrique, GH Pitié Salpétrière, paris, France
4. Département de Génétique et de Cytogénétique; centre de référence "Déficience intellectuelles de causes rares";Centre de Référence Maladies Rares « Anomalies du développement et syndromes malformatifs – Ile de France »; Centre de Référence Maladies Rares, GH Pitié Salpétrière, paris, France
5. Département de Génétique et de Cytogénétique, GH Pitié Salpétrière, Paris, France
6. département de génétique et cytogénétique; centre de référence maladies cardiaques héréditaires, CHU Pitié Salpétriere, paris, France
7. Département de Génétique et de Cytogénétique, GH Pitié Salpétrière, paris, France
8. Département de Génétique et de Cytogénétique, GH Pitié Sapétrière, paris, France
9. Département de Génétique et de Cytogénétique; Centre de référence"déficiences intellectuelles de causes rares", GH Pitié Salpétrière, paris, France
10. Département de Génétique et Cytogénétique ; Centre de Référence des Maladies Cardiaques Héréditaires, CHU Pitié Salpétriere, paris, France
11. Département de Génétique et de Cytogénétique, GH Pitié salpétriere, Paris, France
12. Département de Génétique et de Cytogénétique, GH Pitié Salpétriere, paris, France
13. institut de myologie, GH Pitié Salpétriere, PARIS, France
14. Service de gynécologie obstétrique, hopita l Trousseau, paris, France
15. Service de gynécologie Obstétrique, GH Pitié Salpétrière, paris, France
16. Service de pédopsychiatrie, GH Pitié Salpétrière, Paris, France
17. Département de Génétique et de Cytogénétique; centre de référéence "déficience intellectuelles de causes rares", GH Pitié Salpétrière, Paris, France
18. Service de gynécologie Obstétrique, GH Pitié Salpétrière, Paris, France
19. Département de Génétique et de Cytogénétique, GH Pitié Salpétriere, Paris, France
20. Département de Génétique et de Cytogénétique; centre de référence "déficiences intellectuelles de causes rares";5. Centre de Référence Maladies Rares « Maladies et Malformations congénitales du cervelet »;INSERM CRicm, UMR-S975, GH Pitié Salpétrière, Paris, France

Le diagnostic prénatal dans les maladies héréditaires à révélation tardive ou à expression variable interroge les praticiens qui y sont confrontés. La loi de bioéthique de 1994, révisée en 2011 précise qu'une « interruption de grossesse peu, être pratiquée si (…) il existe une forte probabilité que l'enfant à naître soit atteint d'une affection d'une particulière gravité reconnue comme incurable au moment du diagnostic ». Mais elle ne précise pas ce qu'est une affection d'une « particulière gravité », ni à partir de quel âge, elle doit être considérée. De même, la notion de curabilité peut correspondre à des traitements lourds et douloureux, pas toujours synonyme de guérison.

Une réunion mensuelle dédiée à ces pathologies a été mise en place dans le Département de Génétique de l'Hôpital de la Pitié Salpêtrière depuis 2007. Les spécialistes médicaux (biologiste, cardiologue, généticien, neurologue, obstétricien, pédiatre, pédopsychiatre, sage femme), et paramédicaux (conseiller en génétique, psychologue) qui y participent donnent un avis décisionnaire au Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal. Les données cliniques, génétiques et familiales sont parties prenante de chaque décision. Au préalable, les couples sont reçus en consultation, pour chaque nouvelle grossesse, par un obstétricien, un psychologue et un généticien, spécialiste de la pathologie, participant à cette réunion. Les consultations sont un moment privilégié pour permettre l'anticipation du projet parental, et le risque de récidive.

Depuis 2007, 137 dossiers ont été discutés, (de une à six fois) représentant 101 couples. Les demandes correspondent à diverses pathologies prises en charge dans le Département, tel que : maladie de Huntington (28), paraparésies spastiques (11), maladie de Steinert (10), maladie de Charcot-Marie-Tooth (10), ataxies cérébelleuses (5), myopathie Facio-Scapulo-Humérale (3), myopathie de Becker (3), cardiomyopathies (2), prédispositions familiales aux cancers (1).
Au total sur 65 demandes effectives de diagnostic prénatal : 54 ont été acceptées et 11 ont eu un avis défavorable. 46 diagnostics prénataux ont été effectués. 17 résultats défavorables ont été rendus, chacun des couples a maintenu sa demande d'interruption médicale de grossesse. 26 demandes n'ont pas donné lieu à une décision après une première discussion. Un avis complémentaire ou un nouvel entretien psychologique a été demandé. 19 demandes ont été faites en cours de grossesse alors que le risque n'était pas encore établi (statut génétique d'hétérozygotie ou présymptomatique). 8 couples ont renoncé à leur demande de diagnostic prénatal à l'issue des entretiens, mais leur dossier a été discuté.

La pluridisciplinarité dans ces réunions régulières enrichit les échanges centrés sur un couple connu de plusieurs professionnels présents ce qui permet une prise de décision ajustée. Une réflexion est actuellement en cours sur les modalités de cette prise de décision.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P500 - PREMIER CAS RAPPORTE DE DIAGNOSTIC PRENATAL D'UNE MOSAÏQUE 45,X/47,XX,+13 : RELATION PHENOTYPE-CARYOTYPE ET MECANIQUE CHROMOSOMIQUE. FIRST PRENATAL REPORT OF 45,X/47,XX,+13 MOSAICISM IN A FETUS WITH MULTIPLE MALFORMATIONS : PHENOTYPE AND OCCURRENCE.

V Gatinois (1), C Coubes (2), N Bigi (2), A Schneider (1), AM Chaze (1), P Sarda (2), G Lefort (1), S Taviaux (1)

1. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Département de Génétique Médicale, Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

La présence de deux aneuploïdies en mosaïque chez un individu est un événement rare. A notre connaissance, seulement trois cas impliquant une trisomie 13 associée à une anomalie de nombre des gonosomes ont été rapportés et uniquement chez des nouveaux-nés vivants. Schinzel et al. (1973) ont émis plusieurs hypothèses pour expliquer l'origine de ces anomalies de ségrégation.

Nous rapportons le cas de la coexistence de deux aneuploïdies découvertes sur un caryotype fœtal réalisé pour malformations multiples découvertes à l'échographie. L'analyse chromosomique du liquide amniotique met en évidence une mosaïque 45,X[15]/47,XX,+13[85] et l'absence de cellules 46,XX. Une interruption médicale de grossesse a été réalisée à 26 SA. L'hybridation in situ fluorescente, réalisée sur différents tissus fœtaux (poumon, foie, muscle et thymus) met en évidence la présence de cellules 45,X et de cellules 47,XX,+13 pour tous les tissus examinés.

Afin de mieux comprendre le mécanisme de survenue de ces deux aneuploïdies en mosaïque, nous avons entrepris une étude de l'origine parentale des chromosomes 13 et du chromosome X. Par ailleurs, nous discutons la relation phénotype-caryotype chez le fœtus, ainsi que les différents événements de ségrégation pouvant conduire à la présence de ces deux lignées aneuploïdes.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P501 - DIAGNOSTIC PRE-IMPLANTATOIRE DE LA MALADIE DE VON HIPPEL-LINDAU

A Girardet (1), I Coupier (2), C Coubes (3), P Sarda (4), S Richard (5), M Claustres (6)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU de Montpellier, INSERM U827, Montpellier, France
2. Génétique Médicale, Réseau national et centre expert national Cancers rares PREDIR, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. Service de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
4. Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
5. Réseau national et centre expert national Cancers rares PREDIR, Service d'urologie et Laboratoire de Génétique Oncologique EPHE, Faculté de médecine Paris-Sud, INSERM U753, Hôpital de Bicêtre et Institut de cancérologie Gustave Roussy, Le Kremlin Bicêtre et Villejuif, France
6. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU de Montpellier et INSERM U827, Montpellier, France

Le diagnostic pré-implantatoire (DPI), pratiqué à ce jour dans 3 centres en France (Paris, Strasbourg et Montpellier) permet à des couples susceptibles de transmettre une maladie génétique d'une particulière gravité à leur descendance, d'avoir des enfants indemnes de cette affection. Ce diagnostic est réalisé sur 1 à 2 blastomères prélevé(s) sur des embryons de 3 jours, conçus par des techniques de fécondation in vitro par injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI). La maladie de von Hippel-Lindau (VHL) représente l'indication de DPI en oncogénétique la plus fréquente dans notre centre : depuis 2003, 22 couples ont formulé une demande au centre pluridisciplinaire de DPI de Montpellier. La maladie de VHL, dont l'incidence est estimée à un cas pour 36 000 naissances, est caractérisée par six lésions majeures : hémangioblastomes du système nerveux central et de la rétine, tumeur du sac endolymphatique, phéochromocytomes, cancers à cellules claires et kystes des reins, kystes et tumeurs (adénome ou tumeur neuroendocrine) du pancréas. Les manifestations cliniques apparaissent habituellement entre 18 et 30 ans mais peuvent se révéler dès l'âge de 5 ans. Cette maladie est due à des mutations du gène VHL localisé en 3p25.26, et se transmet sur un mode autosomique dominant. Parmi les 22 demandes de DPI qui nous ont été adressées (13 hommes et 9 femmes porteurs de la mutation délétère), nous avons reçu les prélèvements sanguins nécessaires aux analyses génétiques pré-DPI pour 13 familles, 3 couples sont en cours de réalisation du bilan gynécologique initié avant toute étude moléculaire et 6 couples n'ont pas été analysés (grossesse spontanée, arrêt de la demande de DPI pour raisons personnelles, ou non acceptation du dossier suite aux résultats du bilan gynécologique en inadéquation avec une stimulation ovarienne). Nous avons développé des protocoles de PCR multiplex à l'échelle unicellulaire permettant d'étudier simultanément la mutation causale de chacun des couples demandeurs d'un DPI ainsi que 7 marqueurs microsatellites localisés de part et d'autre du gène VHL. L'étude de ces marqueurs permet principalement de réaliser un diagnostic génétique indirect, mais aussi de vérifier l'absence de contamination par de l'ADN exogène et de déterminer la ploïdie des embryons étudiés (pour le chromosome étudié).

Parmi les 13 familles analysées, 12 couples (8 hommes, 4 femmes) ont débuté au moins 1 cycle de DPI aboutissant à 7 grossesses et à la naissances de 9 enfants. Les taux de grossesse obtenus sont de 26,9% par cycle débuté, 30,4% par ponction folliculaire et 38,9% par transfert embryonnaire.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P502 - APPORT DE L'ACPA (CGH ARRAY) DANS LA CARACTERISATION D'UN MARQUEUR CHROMOSOMIQUE SURNUMERAIRE EN PERIODE PRENATALE.

V roze (1), MA collonge rame (1), A martin (2), M beri (3), L van maldergem (4), JL bresson (1)
1. Service de Génétique-Histologie-BDR, CHU Saint Jacques, besancon, France
2. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU Saint Jacques, besancon, France
3. Laboratoire de Génétique, CHU brabois, nancy, France
4. Centre de Génétique Humaine, CHU Saint Jacques, besancon, France

Les marqueurs surnuméraires de petite taille ont toujours posé en cytogénétique classique des problèmes d'identification et de caractérisation ; la FISH, et les ressources qu'elle offre, a fortement fait progressé les possibilités diagnostiques dans ce domaine, du moins concernant l'origine chromosomique du matériel en cause , si ce n'est toujours concernant sa nature précise; toutefois lorsqu'il s'agit d'une découverte de diagnostic prénatal, la détermination du contenu d'un petit chromosome excédentaire revêt un intérêt pronostique primordial et urgent. Dans ces conditions le recours à l'ACPA, proposition technique dont la mise en œuvre en diagnostic prénatal reste sujette à discussion, apparaît incontournable tant elle est en mesure d'apporter une réponse rapide précise et pratique à la question posée.

Nous présentons ici le résumé d'une démarche diagnostique conduite récemment en DPN chromosomique effectué à partir d'une amniocentèse indiquée à 32 semaines chez une primipare agée de 23 ans pour signes d'appel échographiques : retard de croissance intra-utérin et fémurs courts. La cytogénétique classique conclut à l'existence d'un marqueur excédentaire ponctiforme de petite taille ; compte tenu de l'urgence liée à l'âge de la grossesse dans les 2 semaines suivantes, les tentatives d'identification par cytogénétique moléculaire concluent rapidement à la nature 14 ou 22 de son centromère (sondes D14Z1 (14p11-q11) et D22Z1 (22p11.1-q11.1) cytocell. La recherche à partir des cellules cultivées de disomie uniparentale du 14 est réalisée et s'avère négative et finalement le recours à l'ACPA montre que le marqueur est un dérivé de 22, d'une taille minimale de 4,2 Mb incluant partiellement la région impliquée dans la microduplication récurrente 22q11. Les parents ayant été informés du risque que pouvait impliquer cette trisomie partielle 22q11, de l'hétérogénéité et de la variabilité phénotypique de l'entité « Cat-Eye Syndrome », l'enfant est né, conformément à leur choix, quelques semaines plus tard ; il présentait en période néonatale quelques traits phénotypiques compatibles avec la trisomie partielle identifiée

L'ACPA a représenté là un apport déterminant à la fois pour l'équipe médicale et pour le couple dans la prise en charge d'une incertitude que l'on sait, en diagnostic prénatal tardif, très lourde à gérer.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P503 - DETERMINATION NON INVASIVE DU SEXE FŒTAL SUR SANG MATERNEL : OPTIMISATION D'UN DIAGNOSTIC EN ROUTINE.

M Burani (1), M Tsochandaridis (2), L Nasca (2), C Toga (3), N Philip (4), P Malzac (5), S Sigaudy (5), L Boubli (6), C D'Ercole (6), J Gabert (3), A Levy-Mozziconacci (7)

1. Laboratoire de biologie Materno-foetal, Hopital Nord, Marseille, France
2. Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Unité Biologie Materno-foetale, Hopital Nord, APHM, Aix-Marseille Université, Marseille, France
3. Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Unité Biologie Materno-fœtale, Hôpital Nord, APHM, Aix-Marseille Université, Marseille, France
4. Centre Pluridisciplinaire de médecine foetale, Département de Génétique Médicale, Hopital Timone, Marseille, France
5. Centre Pluridisciplinaire de médecine fœtale, Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone, Marseille, France
6. Service Gynécologie Obstétrique, Hopital Nord, Marseille, France
7. Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Unité Biologie Materno-foetale, Hôpital Nord, APHM, Aix-Marseille Université, Marseille, France

Depuis 2011, le diagnostic de sexe fœtal sur sang maternel est pris en charge en France par l'assurance maladie dans le cadre de deux indications, les maladies génétiques liée à l'X et l'hyperplasie congénitale des surrénales. Nous rapportons ici l'expérience du laboratoire de biologie materno-fœtal de l'Assistance Publique - Hôpitaux de Marseille. Afin de permettre une optimisation de ce diagnostic en routine, nous avons comparé l'utilisation de deux cibles différentes sur le chromosome Y (gène SRY et DYS14) en PCR quantitative en temps réel.

83 échantillons de plasmas maternels issus de femmes enceintes entre 6 et 34 semaines d'aménorrhées suivies dans les deux centres de médecine fœtale de l'APHM ont été analysés (maladies liées à l'X= 69, Hyperplasie congénitale des surrénales= 7, ambiguité sexuelle= 5).

Tous les échantillons de plasma ont été extraits par un automate EZ1 (Qiagen) et analysés par PCR quantitative en temps réel (Taqman 7900, Life Technologies). L'ADN total (gène b-globine) et ADN fœtal (gène SRY et DYS14) ont été quantifiés à l'aide d'une gamme de calibration plasmidique pour la b-globine et le gène SRY et une gamme d'ADN génomique pour DYS14. Un prélèvement de contrôle est demandé devant le diagnostic d'un fœtus de sexe féminin réalisé avant 10 SA.

La sensibilité, la spécificité et l'exactitude seront discutées pour chacune des deux approches. Cette étude permettra de définir des critères de qualité pré-analytique, analytique et post-analytique pour la standardisation de cette analyse non-invasive dans le cadre de l'accréditation des laboratoires.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P504 - SYNDROME 3MC: UN DIAGNOSTIC A EVOQUER DEVANT UNE FENTE LABIO-PALATINE CHEZ LE FŒTUS

s sigaudy (1), M Capelle (2), E Quarelllo (3), E Consolino (1), M Dampierre (4), MC Manca (4), N Philip (1)
1. Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone, Marseille, France
2. Service d'Obstétrique, Hôpital de la Conception, Marseille, France
3. Service de Médecine foetale, Hôpital Saint Joseph, Marseille, France
4. Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone Enfant, Marseille, France

La prévalence des fentes labiales en France est de 1,9/1000 naissances. Les fentes labio-palatines représentent environ 37 % des cas. Dans 8% des cas elles sont liées à une anomalie chromosomique et dans moins de 2% des cas elles sont en relation avec un syndrome monogénique de transmission dominante ou récessive. Le plus souvent en cas de fente labio-palatine isolée chez le fœtus, le conseil génétique est rassurant et la grossesse est poursuivie.
Nous rapportons deux cas de fente labio-palatine de découverte anténatale s'intégrant dans le cadre d'un syndrome récessif, le syndrome 3MC. Ce syndrome rassemble 4 entités initialement décrites séparément, les syndromes de Carnevale, Mingarelli, Malpuech et Michels, tous de transmission autosomique récessive. Les principales manifestations cliniques sont une dysmorphie faciale, une fente labio palatine ou palatine, un retard de croissance pré et postnatal, un retard mental, une surdité, des anomalies rénales ou des OGE chez le garçon. Des mutations de MASP1 et COLEC11, deux gènes impliqués dans une des voies d'activation du complément sont à l'origine de ces syndromes.
La première observation est celle du deuxième enfant d'un couple consanguin d'origine algérienne. Au cours de la grossesse une fente labio-palatine unilatérale apparemment isolée a été identifiée à 26 SA. A la naissance, l'enfant présentait un syndrome dysmorphique avec hypertélorisme, fentes palpébrale étroites, fontanelle antérieure large, fistules et condylomes pré-tragiens, clinodactylie bilatérale de 5è doigts et fossette sacro-coccygienne, A l'âge de 9 mois a été diagnostiquée une surdité. Un nouvel examen clinique a l'âge de 1 an a permis de mettre en évidence une dépression péri-ombilicale évoquant un syndrome 3MC. Le séquençage du gène COLEC11 a mis en évidence une substitution à l'état homozygote dans l'exon 2. Un conseil génétique approprié a été donné aux parents qui souhaiteraient recourir à n diagnostic prénatal pour la prochaine grossesse.
Le deuxième cas concerne la cinquième grossesse d'un couple consanguin d'origine philippine, adressée dans notre centre de diagnostic prénatal à 20 SA après la découverte d'une fente labio-palatine bilatérale. Le caryotype fœtal a montré une formule chromosomique normale 46XY. L'existence d'une consanguinité associée à la mises en évidence à l'échographie d'un hypertélorisme marqué, d'un RCIU et d'un hypospadias ont fait évoquer le diagnostic de syndrome 3MC. La grossesse s'est terminée par une mort fœtale in utero. Les parents ont refusé l'autopsie et il n'a pas été possible d'obtenir de l'ADN fœtal.

Au total, devant la découverte d'une fente labio-palatine chez le fœtus il est nécessaire de rechercher des éléments morphologiques évocateurs de syndrome 3MC, en particulier lorsque les deux conjoints sont apparentés..

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P505 - LA MUTATION P.ARG117HIS CHEZ LES PATIENTS ABCD: QUELLES IMPLICATIONS POUR LE DIAGNOSTIC, LE SUIVI ET LE CONSEIL GENETIQUE ?

THE P.ARG117HIS MUTATION IN CBAVD PATIENTS : WHICH IMPLICATIONS FOR DIAGNOSIS, FOLLOW-UP AND GENETIC COUNSELING ?

C. Thauvin-Robinet[1], A. Munck[2,3], F. Huet[2,4], A. de Becdelièvre[5], C. Jimenez[6], G. Lalau[7], E. Gautier[8], R. Nové-Josserand[9], A. Haloun[10], D. Hubert[11], G. Bellis[12], G. Rault[13], A. David[14], R. Chiron[15], N. Rives[16], D. Hairion[17], P. Collignon[18], I. Creveaux[19], V. Dalstein[20], S. Gobin-Limballe[21], A. Kitzis[22], C. Magdelaine[23], M.C. Malinge[24], P. Malzac[25], H. Mittre[26], C. Philippe[27], P. Ray[28], M. Raynaud[29], A. Rossi[30], M-P. Audrézet[31], C. Férec[31], J. Leclerc[7], M. des Georges[32], M. Claustres[32], T. Bienvenu[33], B. Gérard[34], P. Boisseau[35], F. Cabet-Bey[36], D. Cheillan[37], D. Feldmann[38], C. Clavel[39], E. Bieth[40], A. Iron[41], B. Simon-Bouy[42], J. Steffann[43], S. Viville[44], C. Costa[5], V. Drouineaud[6],C. Binquet[8], C. Bonithon-Kopp[8], M. A. Morris[45], L. Faivre[1], M. Goossens[5], M. Roussey[2,46], E. Girodon[5], and the collaborating working group on p.Arg117His.

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, CHU, Brest, France
2. INED, 133 boulevard Davout, Paris, France
3. Laboratoire de Biochimie-Génétique, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France
4. Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France
5. Unité INSERM U866 CIE1, Faculté de médecine de Dijon, CHU, Dijon, France
6. Service de Génétique Médicale, Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France
7. Service d'Endocrinologie Moléculaire et Maladies rares, Centre de Biologie et Pathologie Est, CHU de Lyon, Bron, France
8. Service des Maladies Héréditaires du Métabolisme et Dépistage Néonatal. Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
9. CRCM – Service de Pédiatrie, CHU, Montpellier, France
10. Laboratoire de Génétique Moléculaire, IURC, CHU, Montpellier, France
11. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Reims, France
12. Génétique Médicale, CH, Toulon, France
13. Service de Biochimie-Génétique et Inserm U955 équipe 11, Groupe Henri Mondor-Albert Chenevier, APHP, Créteil, France
14. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Clermont-Ferrand, France
15. Service de Génétique Médicale, CHU, Nantes, France
16. Service de Biochimie-Génétique et Inserm U955 équipe 11, Groupe Henri Mondor-Albert Chenevier, APHP, Créteil, France
17. Service de Biologie de la reproduction, Maternité du Bocage, CHU, Dijon, France
18. Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU, Dijon, France
19. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, APHP, Paris, France
20. Service de Néonatologie, Centre Médico-Chirurgical et Obstétrical (SIHCUS-CMCO), Schiltigheim, France
21. Unité INSERM U866 CIE1, Faculté de médecine de Dijon, CHU, Dijon, France
22. Laboratoire de Biochimie Génétique, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France
23. Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France
24. Service de Biochimie-Génétique et Inserm U955 équipe 11, Groupe Henri Mondor-Albert Chenevier, APHP, Créteil, France
25. CRCM - Unité de transplantation thoracique, CHU Hôpital Guillaume et René Laënnec, Nantes, France
26. CRCM - Service de Pneumologie, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France
27. CRCM – Service de Pédiatrie 1, Hôpital d'Enfants, CHU, Dijon, France
28. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Service de Génétique Médicale, Groupe Hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France
29. Service de Biologie de la reproduction, Maternité du Bocage, Dijon, France
30. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Poitiers, France
31. Pôle de Biochimie et Biologie Moléculaire, Centre de Biologie Pathologie, CHU, Lille, France
32. Pôle de Biochimie et Biologie Moléculaire, Centre de Biologie Pathologie, CHU de Lille, Lille, France
33. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Limoges, France
34. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Angers, France
35. Laboratoire de Génétique Moléculaire, APHM, Marseille, France
36. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Caen, France
37. Laboratoire de Diagnostic moléculaire, Service de Médecine Génétique, University Hospital, Geneva, Suisse
38. CRCM - Service de Gastro-entérologie-mucoviscidose et nutrition pédiatriques, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France
39. CRCM - Service de Médecine interne, Centre hospitalier Lyon sud, Pierre-Bénite, Lyon, France
40. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Nancy, France
41. CRCM, Centre de Perharidy, Roscoff, France
42. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Grenoble, France
43. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Tours, France
44. EA 4308 « Spermatogénèse et qualité du sperme mâle », IFRMP23, IHU Rouen Normandie, Laboratoire de Biologie de la Reproduction – CECOS, CHU Rouen, Rouen, France
45. CRCM - Département de médecine de l'enfant et de l'adolescent, CHU de Rennes - Hôpital Sud, Rennes, Rennes, France
46. Laboratoire SESEP, Centre hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France
47. Service de Biologie de la Reproduction, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France
48. Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU, Dijon, France
49. Unité de diagnostic pré-implantatoire, Centre Médico-Chirurgical et Obstétrical (SIHCUS-CMCO), Schiltigheim, France

L'absence bilatérale des canaux déférents (ABCD) est une cause fréquente d'infertilité masculine, majoritairement liée à des mutations du gène CFTR. L'étude du gène CFTR chez les patients permet de confirmer le diagnostic et d'identifier les porteurs de mutations sévères dans un but de conseil génétique pour les couples et les familles. Près de 1900 mutations du gène CFTR sont actuellement décrites, la mutation c.350G>A, p.Arg117His étant la troisième en fréquence chez les patients ABCD, et la deuxième chez les nouveau-nés repérés au dépistage néonatal. Une étude rétrospective épidémiologique et de corrélation génotype-phénotype, menée en France sur la période 1990-2008 afin d'aider au diagnostic et au conseil génétique, permit de requalifier la mutation p.Arg117His en mutation non CF à pénétrance faible. La présente étude détaille les données du phénotype des patients infertiles, ainsi que celles du conseil génétique et de procréation médicalement assistée (PMA) pour les couples.
Parmi 179 individus porteurs de la mutation p.Arg117His et d'une seconde mutation diagnostiqués sur symptômes ou histoire familiale, 136 (76%) étaient adressés pour ABCD, 18 (10%) pour symptômes respiratoires, 15 (8%) pour antécédents familiaux, 5 (3%) pour atteinte pancréatique et 5 (3%) pour d'autres raisons. L'ensemble des données cliniques étaient disponibles pour 100/136 patients ABCD : 66/100 présentaient une ABCD isolée, 19/100 une atteinte pulmonaire, 6/100 une atteinte pancréatique et 17/100 une atteinte ORL. D'après le test de la sueur, 53/85 (62%) avaient un diagnostic de mucoviscidose mais aucune corrélation ne fut observée entre la concentration en ions chlorure et la présence de symptômes pulmonaires associés. La documentation détaillée de l'infertilité était disponible chez 67/136 patients ABCD. 54 d'entre eux eurent recours à la PMA, incluant 110 cycles d'ICSI qui menèrent à la naissance de 33 enfants. Une étude du gène CFTR, effectuée chez 53 conjointes, révéla 6 (11.3%) hétérozygotes pour une mutation fréquente et sévère, alors que la fréquence de ces hétérozygotes dans la population française est d'environ 3%. Les couples identifiés à risque bénéficièrent d'un diagnostic prénatal, préimplantatoire ou d'un don de sperme. Parmi les 8 enfants nés, 4 étaient hétérozygotes composites pour la mutation p.Arg117His et une mutation sévère. Ils sont actuellement asymptomatiques.
En conclusion, malgré la requalification de la mutation p.Arg117His en mutation non CF et à pénétrance faible, les patients ABCD porteurs de cette mutation et d'une mutation sévère devraient bénéficier d'une évaluation et d'un suivi clinique spécialisé régulier. Le test de la sueur n'apparaît cependant pas corrélé au degré d'atteinte. Une analyse du gène CFTR devrait être proposée chez la conjointe, en fonction du génotype du patient, dans le but d'identifier des couples à risque d'avoir un enfant atteint de mucoviscidose et leur offrir un diagnostic prénatal ou préimplantatoire.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P506 - HYPOGONADISME HYPOGONADOTROPE ISOLE: UNE NOUVELLE MUTATION DU RECEPTEUR DE LA GNRH

S HIÉRONIMUS (1), J BOULIGAND (2), C PAUL (3), I FATFOUTA (3), P FÉNICHEL (3), A GUIOCHON-MANTEL (4)

1. Endocrinologie-Reproduction CHU de Nice, CHU de Nice, NICE, France
2. Génétique Moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, Hôpital Universitaire de Bicêtre, Le kremlin-Bicêtre, France
3. Endocrinologie-Reproduction, CHU NICE, NICE, France
4. Génétique moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, Hôpital Universitaire Paris Sud, Le Kremlin Bicêtre, France

Les mutations du gène du récepteur de la GnRH sont responsables de 4 % des hypogonadismes hypogonadotropes isolés sans anosmie. A ce jour une vingtaine de mutations perte de fonction avec une transmission autosomique récessive ont été identifiées. Le tableau clinique est variable allant d'un hypogonadisme partiel à un hypogonadisme complet. Nous rapportons le cas d'une jeune fille de 16 ans d'origine caucasienne, sans antécédent familial particulier (1 sœur de 19 ans réglée régulièrement depuis l'âge de 12 ans) consultant pour aménorrhée primaire. Examen clinique : 164 cm, 59 kg, absence de troubles de l'odorat, développement pubertaire stade III de Tanner, examen somatique normal. Bilan biologique : E2 inférieur à 10 pg/ml, FSH inférieur à 0.5 U/L et LH inférieur à 0.5 U/L, aucune réponse au test à la LHRH, prolactine 5 mg/l, TSH 2.9 mUI/l, T4l 13.4 pmol/l. Bilan radiologique : âge osseux 14 ans, IRM hypophysaire normale. Echographie pelvienne : utérus infantile, deux ovaires de petite taille. Le séquençage du récepteur de la GnRH a permis d'identifier deux mutations hétérozygotes. Une mutation faux sens (p.Alal71Thr) connue dans l'exon 1 (Karges et al 2003), et une mutation non décrite dans l'exon 3. Il s'agit de la délétion du codon 309 (CTT) codant une phénylalanine (p.Phe309del). Cet acide aminé hydrophobe est localisé dans le 7ème domaine transmembranaire du récepteur, il est très conservé parmi les espèces. Sa délétion perturbe très probablement l'adressage du récepteur à la membrane plasmique.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P507 - LE DIAGNOSTIC PRENATAL APRES UN DIAGNOSTIC PRESYMPTOMATIQUE DANS LA MALADIE DE HUNTINGTON

C JAUFFRET (1), D VAUTHIER BROUZES (2), C CAZENEUVE (3), A HERSON (4), M DOMMERGUES (5), J FEINGOLD (4), E SCHAERER (4), A MALLET (6), D HERON (7), M GARGUILO (8), A DURR (9)

1. département de génétique et de cytogénétique, GH Pitié salpétrière, Paris, France
2. service de gynécologie obstétrique, GH Pitié Salpétrière, paris, France
3. Département de Génétique et de Cytogénétique, GH Pitié Sapétrière, paris, France
4. Département de Génétique et de Cytogénétique, GH Pitié Salpétrière, Paris, France
5. Service de gynécologie Obstétrique, GH Pitié Salpétrière, paris, France
6. Département de Génétique et Cytogénétique ; Centre de Référence des Maladies Cardiaques Héréditaires, CHU Pitié Salpétrière, paris, France
7. Département de Génétique et de Cytogénétique; centre de référence "déficiences intellectuelles de causes rares";5. Centre de Référence Maladies Rares « Maladies et Malformations congénitales du cervelet »;INSERM CRicm, UMR-S975, GH Pitié Salpétrière, Paris, France
8. département de génétique et cytogénétique, GH Pitié Salpétrière, Paris, France
9. Département de Génétique et de Cytogénétique, GH Pitié salpétriere, Paris, France

Le diagnostic prénatal (DPN) est une demande rare formulée par 16% des porteurs asymptomatiques de la maladie de Huntington (MH) en âge de procréer dans notre centre. Celui-ci accueille une centaine de demandes de diagnostic présymptomatique (DPS) par an pour cette affection. Cette étude a deux objectifs : (i) mieux connaître les motivations des demandeurs de DPN, (ii) avoir leur retour d'information concernant les projets d'enfant après un DPN, le vécu psychologique et la prise de décision, la procédure et la prise en charge médicale.

Nous avons réalisé une enquête téléphonique auprès des couples qui avaient réalisé un DPN suite à un DPS dans la MH. Nous avons pu contacter 19 couples et réaliser 24 interviews (7 hommes porteurs, 10 femmes porteuses, 7 conjointes). La moyenne d'âge était de 35 ans [27-47] et le temps moyen écoulé entre le dernier DPN et l'entretien était de 3.5 ans [1 mois-12 ans]. 15/19 avaient demandé un DPN dès leur première grossesse : parmi eux, 7 couples ont reçu un résultat favorable dont 2 ont à nouveau obtenu un DPN favorable lors d'une deuxième grossesse. 7 autres couples ont réalisé un premier DPN défavorable, et seulement 3 ont redemandé un DPN environ un an plus tard. 1/15 a eu des jumeaux dont un fœtus sur 2 était sain. 4/19 avaient déjà fait des enfants sans avoir recours au DPN. Après 2 résultats défavorables, un couple s'interroge sur le recours au diagnostic préimplantatoire, et doute sur le fait d'interrompre la grossesse si le fœtus est atteint lors d'un prochain DPN. 1/4 n'ayant réalisé qu'un seul DPN au résultat défavorable est prêt à revivre un DPN. 1/4 commence les démarches pour un don de sperme (après 4 DPN défavorables). 1/4 choisit de ne pas planifier de grossesse, mais « s'en remettre au destin ». 1/4 ne souhaite plus avoir d'enfant. Dans la population étudiée, tous les DPN favorables ont abouti à une naissance et tous les résultats défavorables ont été suivis d'une interruption de grossesse (IMG). Concernant l'IMG, 2 femmes ont expliqué que la taille de l'expansion de CAG chez le fœtus avait joué un rôle dans leur décision. L'évaluation du bien-être global depuis leur expérience de DPN (n=24), sur une échelle de 1 à 9, a montré un score moyen de 7,2 [5-9].

La plupart des couples pensent que le DPN est une «ressource » indispensable pour avoir un enfant. 9/24 interviewés estiment que la durée entre le début de la grossesse et le résultat du DPN est trop longue. Tous étaient satisfaits de la prise en charge. 2/24 expriment un besoin d'information sur les recherches en cours et un suivi psychologique.

Le DPN est une démarche bien encadrée, demandée par peu de couples dans la MH. Quelque soit le résultat du DPN, plusieurs facteurs influencent le projet reproductif a posteriori : la peur de l'IMG, le risque de fausse couche lors du prélèvement et l'attente du diagnostic.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P508 - POLYMORPHISME DES SEQUENCES ALPHA SATELLITES ET FAUX POSITIF DE TRISOMIE 18 EN DIAGNOSTIC PRENATAL PAR FISH INTERPHASIQUE : PRESENCE DE MATERIEL HYBRIDANT LA SONDE D18Z1 DANS L'HETEROCHROMATINE JUXTACENTROMERIQUE DU BRAS LONG D'UN CHROMOSOME 9

A Luquain (1), MA Collonge-Rame (1), N Chelloug (2), S Reviron (3), JL Bresson (1)

1. Service GB-H-BDR Unité de Génétique et Biologie du Développement, CHU Saint Jacques, Besançon, France
2. Cytogénétique, Laboratoire BIOMNIS, Lyon, France
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, CH, Lons-Le-Saunier, France

La FISH interphasique est une technique rapide, sensible et spécifique. Le suivi d'un retard de croissance intra-utérin et d'une microcéphalie repérés à l'échographie du 3ème trimestre a motivé la réalisation d'une amniocentèse à 36 semaines d'aménorrhée pour diagnostic chromosomique avec demande d'un diagnostic rapide d'aneuploïdie par hybridation in situ en fluorescence (FISH) interphasique mise en œuvre à l'aide de la trousse AneuVysion® (sondes LSI21/LSI13/D18Z1/DXZ1/DYZ3). Le résultat conclue sans ambiguïté à des signaux gonosomiques compatibles avec un sexe chromosomique XX, un nombre normal de signaux 13 et 21, et par contre à la présence de trois spots D18Z1 compatibles avec une trisomie 18. Les caryotypes sur liquide amniotique et sang fœtal s'avèrent normaux. La vérification en FISH métaphasique avec la sonde D18Z1 objective en plus des signaux centromériques de la paire de chromosome 18, un troisième spot dans l'hétérochromatine d'un chromosome 9 (accolé au spot fourni par la sonde D9Z1). A notre connaissance, il s'agit du 5ème cas rapporté dans la littérature de cross-hybridation de la sonde D18Z1 sur un autre autosome et le 3ème cas de cross-hybridation sur un chromosome 9. La région hétérochromatique du chromosome 9 est très dynamique. Dans ce cas, il s'agit d'un chromosome 9 variant avec une microinsertion d'une séquence alpha-satellite du chromosome 18. Même si ce polymorphisme est exceptionnel, cette observation objective les limites de la FISH interphasique en diagnostic prénatal. Elle confirme la nécessité, dans l'état actuel des pratiques, de l'analyse complémentaire conventionnelle des chromosomes.

Mots clés : diagnostic prénatal, FISH, trisomie 18, polymorphisme, chromosome 9

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P509 - DIAGNOSTIC PRENATAL DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES EN TUNISIE : A PROPOS DE 15.000 CAS

L kraoua (1), I Ouertani (1), I Chelly (1), M Trabelsi (1), R Sakka (1), Y Elaribi (1), S Mabrouk (1), R Mokhtar (1), M Chaabouni (1), L Ben Jemaa (1), R Mrad (1), F Maazoul (1), H Chaabouni (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

Le diagnostic prénatal (DPN) des anomalies chromosomiques occupe une place de plus en plus importante dans la pratique médicale aujourd'hui en Tunisie. La demande est croissante. Les indications du DPN évoluent avec les techniques de dépistage non invasives qui permettent de déterminer le risque fœtal. En Tunisie, malgré son extension, le DPN ne fait pas partie du programme national de santé.

Nous présentons dans ce travail la plus large série de DPN des anomalies chromosomiques menée dans un pays musulman arabe et les différentes indications du DPN des anomalies chromosomiques en Tunisie. L'analyse des résultats obtenus nous a permis d'évaluer la pertinence de chaque indication.

Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur 15.000 cas de DPN colligés au service des maladies congénitales et héréditaires de l'hôpital Charles Nicolle de Tunis sur la période allant de Septembre 1996 à Avril 2009.

Le nombre de DPN est passé de 588 en 1997 à 1571 en 2008. Le DPN des anomalies chromosomiques repose essentiellement sur l'amniocentèse (98,7 % versus 1,3 % de choriocentèses). L'analyse de ces prélèvements est basée principalement sur le caryotype fœtal avec un taux d'échec de 2,7%. L'indication principale du DPN en Tunisie est l'âge maternel ≥35 ans (51,2%) avec une valeur prédictive positive (VPP) égale à 4 ,1%. Parmi les 14598 caryotypes obtenus nous avons identifié 679 anomalies (4,6%). Les anomalies de nombre sont les plus communes (77,6%) et concernent le plus souvent les autosomes (84%). La trisomie 21 représente l'anomalie la plus fréquente (276 cas). Parmi les anomalies de structure, les translocations viennent en première position (61,2%); elles sont le plus souvent équilibrées.

La corrélation entre résultats et indications montre que le test de dépistage intégrant « âge maternel + clarté nucale + marqueurs sériques du deuxième trimestre » offre la VPP la plus élevée ; toutefois cette stratégie est très peu appliquée en Tunisie.

Afin d'améliorer et de promouvoir le DPN des anomalies chromosomiques en Tunisie, une approche multidisciplinaire s'impose. De plus il est nécessaire de mettre en place 1) une formation des médecins et une sensibilisation du grand public 2) une stratégie de dépistage qui repose sur la mesure de la clarté nucale et le dosage des marqueurs sériques du deuxième trimestre 3) un système d'assurance qualité et 4) d'encadrer le DPN par la loi.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P510 - TRANSLOCATION ROBERTSONIENNE HOMOZYGOTE (15;22) ET CONSEIL GENETIQUE

F Abdelhédi (1), N Belguith (1), I Ben Ayed (1), N Gharbi (2), H Kammoun (1), MA Kessentini (1)
1. Service de génétique médicale, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
2. Servie de génétique médicale, CHU Hédi Chaker de Sfax, Sfax, Tunisie

La fréquence des translocations Robertsoniennes est estimée à 0,1% dans la population générale. Nous rapportons le cas d'un couple qui s'est présenté à notre consultation dans le cadre d'une enquête étiologique de fausses couches à répétition. L'analyse cytogénétique (caryotype en bandes G) a montré une double translocation Robertsonienne [44, XX, Rob (15; 22) (q10; q10) x 2] chez la patiente et s'est révélée normale chez le conjoint (caryotype [46, XY]).

Lors de la dernière grossesse, le caryotype prénatal a révélé une translocation Robertsonienne équilibrée [45,XY,Rob(15;22)(q10;q10)].

La femme a donné naissance à un garçon qui a une malformation du tube neural avec un bon tonus axial sans autre anomalie de développement.

Cette double translocation Robertsonienne n'expose pas au risque de disomie uniparentale. Les indications d'un diagnostic prénatal sont discutées.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P511 - APOPTOSE GERMINALE ET ANOMALIES DE LA SPERMATOGENESE D'ORIGINE GENETIQUE : CAS DES MICRODELETIONS AZFC DU CHROMOSOME ET DU SYNDROME DE KLINEFELTER

E Streichemberger (1), F Fraissinet (2), J Perrin (2), J Saias-Magnan (2), V Achard (3), G Karsenty (4), J Grillo (5), N Levy (1), M Mitchell (1), C Metzler-Guillemain (1)

1. Inserm UMR_S910, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France
2. Laboratoire de Biologie de la Reproduction- CECOS, AP-HM La Conception, Marseille, France
3. Laboratoire d'Histologie-Cytologie, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France
4. Service d'urologie, AP-HM Hôpital Sainte-Marguerite, Marseille, France
5. Laboratoire de Biologie de la Reproduction- CECOS, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France

Chez les hommes infertiles, les causes génétiques les plus fréquentes d'azoospermie ou d'oligospermie sévère sont syndrome de Klinefelter (SK : 47,XXY) et les microdélétions de la région AZFc du chromosome Y. Grâce aux techniques d'extraction testiculaire de spermatozoïdes et de microinjection les patients porteurs de ces anomalies peuvent devenir pères biologiques si des spermatozoïdes sont retrouvées dans l'éjaculat ou lors du prélèvement testiculaire. Chez les patients porteurs du SK, l'azoospermie est très fréquente mais certaines équipes rapportent des taux d'extraction de spermatozoïdes testiculaires de 48%. Il a été montré que des cellules germinales pré-méiotiques et méiotiques étaient euploïdes, étant donc potentiellement à l'origine de gamètes haploïdes normaux. Pour les patients ayant une microdélétion AZFc, le phénotype testiculaire est assez variable, allant d'un arrêt de maturation à une simple hypospermatogenèse. Les études méiotiques réalisées dans des cas de délétions AZFc ont montré un excès de stades précoces, suggérant que les cellules germinales passaient le cap du pachytène check point, mais étaient stoppées ensuite dans leur maturation.
Dans les deux types de causes génétiques, il a été suggéré que l'altération de la spermatogenèse serait induite par une recrudescence de l'apoptose des spermatocytes.

Nous avons évalué le taux d'apoptose par étude des caspases activées et de la technique TUNEL au cours des stades pré-méiotiques, méiotiques et post-méiotiques chez 8 patients atteints d'azoospermie non obstructive et ayant bénéficié d'une biopsie testiculaire en vue d'assistance médicale à la procréation : 2 patients porteurs du SK, 4 patients porteurs d'une microdélétion AZFc, et 2 patients dits “contrôles” (46, XY et chromosome Y non délété)
Chez les 2 contrôles, le taux de caspases activées et de fragmention d'ADN sont comparables et se situent entre 15% et 25 % aux différents stades de la spermatogenèse. Chez les patients SK, le pourcentage de spermatogonies et de spermatocytes caspase positive est statistiquement supérieur aux contrôles (p

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P512 - ETUDE PROSPECTIVE DU DIAGNOSTIC PRENATAL DE MICRODELETION 22Q11.2 IMPLIQUEE DANS LE SYNDROME DE DIGEORGE PAR FISH SUR NOYAUX INTERPHASIQUES DE CELLULES FŒTALES NON CULTIVEES.

B Francou (1), N Guérin (1), C Borie (1), B Lautier (1), M Nouchy (1), L Tosca (1), S Toujani (1), V Vaast (1), A Benachi (2), G Tachdjian (1), S Brisset (1)

1. Service de Cytogénétique, Hôpital Antoine Béclère, Hôpitaux Universitaires Paris Sud, AP-HP, Clamart, France
2. Service de Gynécologie-Obstétrique, Médecine De La Reproduction, Hôpital Antoine Béclère, Hôpitaux Universitaires Paris Sud, AP-HP, Clamart, France

Introduction : En cytogénétique constitutionnelle, l'hybridation in situ (FISH) est une technique utilisée en routine pour analyser des microremaniements chromosomiques non identifiables sur le caryotype standard.
Le syndrome de DiGeorge (MIM 188400, 192430, 274210) a une prévalence de 1/5000 naissances et est associé à une microdélétion du locus en 22q11.2 (gène TBX1). Le diagnostic est habituellement réalisé par FISH sur chromosomes métaphasiques et nécessite donc une culture cellulaire. Le diagnostic prénatal (DPN) de ce syndrome peut s'avérer urgent dans certaines situations telles que la découverte de cardiopathies fœtales en fin de grossesse. Dans le cadre de l'accréditation de la Biologie Médicale soumis à la norme EN ISO 15189, nous avons validé une méthode de diagnostic prénatal pour ce syndrome dans les situations d'urgences.

Objectifs : L'objectif était de rendre au prescripteur un résultat rapide en 24 à 48h pour le diagnostic de microdélétion de la région 22q11.2 associée au syndrome de DiGeorge en situation d'urgence prénatale.

Méthodes : Nous avons effectué de façon prospective l'analyse par FISH sur noyaux interphasiques de cellules amniotiques non cultivées de 10 fœtus ayant une cardiopathie détectée à l'échographie. Nous avons comparé ces résultats avec ceux de la FISH sur chromosomes métaphasiques (sondes marquées CE comprenant le gène TBX1 contenu dans la région délétée commune chez 90% des patients).
La spécificité, la fiabilité (concordance des résultats entre la FISH métaphasique et la FISH sur noyaux interphasiques), la reproductibilité (inter-opérateur et inter-microscope) et la limite de détection (recherche de mosaïque faible) ont été déterminées sur des échantillons de patients et des échantillons tests.

Résultats : Aucun échec d'hybridation par FISH sur noyaux interphasiques et sur chromosomes métaphasiques n'a été observé. Parmi les 10 analyses, les résultats étaient concordants entre les deux techniques, dont notamment le diagnostic de 2 microdélétions 22q11.2. Deux analyses sur noyaux interphasiques ont nécessité une deuxième hybridation en raison de bruit de fond important. Le résultat de l'examen des noyaux interphasiques a été obtenu en 24 à 48h comparé aux 14 à 28 jours pour la culture cellulaire.
Nous n'avons pas détecté d'hybridation non spécifique, nous avons observé une fiabilité de 100% (incluant les 2 cas avec une seconde hybridation), et une bonne reproductibilité inter-opérateur. Une étude sur échantillons tests mosaïques a permis de mettre en évidence un mosaïcisme faible à 10%.

Conclusion : Nous avons validé une méthode fiable de diagnostic prénatal par FISH sur noyaux interphasiques de cellules fœtales non cultivées des microdélétions impliquées dans le syndrome de DiGeorge. Ce diagnostic rapide offre une meilleure prise en charge et un conseil génétique adapté aux familles. Cette démarche pourra s'appliquer à d'autres syndromes microdélétionnels.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P513 - CONSEIL GENETIQUE PRENATAL DIFFICILE: MOSAÏQUE T13 CONFINEE AU PLACENTA ET T21 EN MOSAÏQUE.

K ALIFERIS (1), F BENA (2), S DAHOUN (2), F FORESTIER (2), I JENNY (2), TM LUONG (2), D MARELLI (2), R ROBYR (3), C VIEUX (2)

1. Service de Médecine Génétique, Hôpitaux Universitaires de Genève, Genève, Suisse
2. Laboratoire de Cytogénétique, Service de Médecine Génétique, Hôpitaux Universitaires de Genève, Genève, Suisse
3. Service de Gynécologie, Hôpital de la Tour, Genève, Suisse

Rapport du cas. Nous rapportons le cas d'un enfant de 6 mois, pour lequel, a été diagnostiquée une mosaïque avec 15% de cellules trisomiques 21 à partir des prélèvements de villosités choriales et du liquide amniotique. Il s'agit du 1er enfant d'un couple non consanguin d'origine brésilienne, issu d'une fécondation in vitro, la mère a 43 ans. Une choriocentèse est demandée en raison d'un risque de 1/2 au test combiné du 1er trimestre. L'analyse à court terme par QF-PCR est compatible avec une mosaïque pour une trisomie 13 dans 20-30% des cellules. Le caryotype est obtenu par la culture long terme 46,XY,i(21)(q10)[3]/ 46,XY,t(7 ;10)(p22 ;q21)[1]/46,XY[21. Une amniocentèse est demandée, le caryotype s'avère : 46,XY,i(21)(q10)[3]/46,XY[24]. Après plusieurs consultations de conseil génétique, le couple décide de poursuivre la grossesse sachant qu'il n'existe aucune anomalie morphologique à l'échographie. La grossesse se déroule sans particularité. A la naissance le score d'Apgar est 9/10/10, le poids de naissance est 3150gr, l'enfant ne présente pas de signes dysmophiques hormis un discret epicanthus, le tonus est normal, l'examen entièrement normal. Le caryotype du sang du cordon est normal 46,XY[50]. L'isochromosome 21 est retrouvée dans 4 des 5 biopsies placentaires avec un maximum de 25% de cellules trisomiques (1 biopsie 46,XY[100]). La période néonatale est marquée par des infections de la marge anale. La croissance et le développement sont sans particularité à l'âge de 6 mois.

Discussion. Le phénotype des enfants avec une faible mosaïque de cellules trisomiques 21 est rarement rapporté dans la littérature, malgré le fait que la trisomie 21 constitue l'aneuploïdie la plus fréquente chez l'homme. En général, la sévérité de l'affection est décrite comme variable en fonction du pourcentage de cellules trisomiques des différents tissus. Le suivi futur de cet enfant nous permettra de confirmer le bon pronostic pour les mosaïques de trisomies 21 inférieurs à 15%. L'analyse chromosomique de différents tissus peut apporter plus d'information sur la compréhension des variations phénotypiques. En outre, dans le cas décrit, une anomalie chromosomique confinée au placenta existait, phénomène bien décrit, dont la fréquence est estimée à environ 1-2% des choriocentèses.

Conclusion. La trisomie 21 en faible mosaïque, inférieur à 15%, peut être associée à un phénotype très léger. L'importance de cette constatation mérite d'être soulignée, vu les implications majeures pour le conseil génétique en prénatal.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P514 - MALFORMATIONS ŒSOPHAGIENNES EN ALSACE (FRANCE): EPIDEMIOLOGIE, CLINIQUE ET GENETIQUE ET EVALUATION DU DIAGNOSTIC PRENATAL ENTRE 1995 ET 2006.

B Doray (1), D Badila-Timbolschi (2), D Fattori (3), B Monga (3), C Cordier (1), B Dott (4), F Becmeur (5), E Schaeffer (4), M Fradin (4), Y Alembik (4), E Le Boette (4), R Favre (6), M Kohler (6), I Nisand (7), B Viville (7), D Astruc (8), F Girard-Lemaire (4), E Flori (4), B Gasser (9), V Lindner (9), H Dollfus (1)

1. Laboratoire de Génétique Médicale EA3949, Faculté de Médecine Fédération de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
2. Fédération de Génétique Médicale, Fédération de Pédiatrie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
3. Laboratoire de Génétique Médicale EA3949, Faculté de Médecine, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
4. Fédération de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
5. Service de Chirurgie Infantile, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
6. Département de Médecine Foetale, CMCO-SIHCUS, Hôpitaux Universitaires, Schiltigheim, Strasbourg, France
7. Département de Gynécologie Obstétrique, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
8. Département de Pédiatrie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
9. Laboratoire de Foetopathologie, Hôpital Emile Muller, Mulhouse, France

Introduction : Les objectifs de cette étude sont d'exposer les données cliniques, génétiques et épidémiologiques des malformations œsophagiennes et d'évaluer l'efficacité du diagnostic prénatal échographique.

Matériels et Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée à partir du registre de Malformations Congénitales d'Alsace (département du Bas-Rhin) entre 1995 et 2006 à partir de 153644 naissances.

Résultats: 52 malformations œsophagiennes sont recensées (prévalence totale de 0,34/1000, soit approximativement 1 naissance sur 3000), subdivisées en 49 cas d'atrésie œsophagienne avec fistule trachéo-œsophagienne, 2 cas d'atrésie sans fistule et 1 cas de fistule sans atrésie. Le sex ratio global est de 1,36 (30/22).

Aucun cas de consanguinité parentale ou de récurrence intra-familiale n'est rapporté. La fécondation est spontanée pour chaque cas. Trois grossesses gémellaires avec un seul des jumeaux atteints sont recensées.

Parmi les 52 cas, 41(79 %) sont nés-vivants, 1 (2 %) est mort-né et 10 (19 %) donnent lieu à une interruption médicale de grossesse.

Des malformations associées sont observées dans 25 des 52 cas (48 %) s'intégrant dans un syndrome génétique ou une association malformative dans 16 cas (31 %). Une anomalie chromosomique est identifiée dans 5 cas (3 cas de trisomie 18). Une association VACTERL est discutée pour 10 cas (19 %).

Seuls 12 cas (23 %) sont suspectés par l'échographie anténatale en raison de l'association hydramnios/estomac petit ou non visualisé. Une interruption médicale de grossesse est réalisée uniquement en cas de formes associées ou syndromiques.

Le pronostic postnatal des malformations œsophagiennes est favorable avec 39 des 41 nés-vivants vivants à 2 ans (95 %) et 38 à 5 ans (93 %). Les cas de décès postnataux concernent tous des cas associés ou syndromiques. Tous les cas isolés sont vivants à l'âge de 5 ans.

Discussion – Conclusion – Les malformations œsophagiennes, dominée par l'atrésie œsophagienne avec fistule trachéo-œsophagienne constituent des malformations non rares avec une prévalence totale de 0,34 pour 1000 naissances totales. Le diagnostic prénatal échographique reste difficile, avec un taux de détection de 25 %. Les formes isolées ont un bon pronostic postnatal mais un bilan malformatif et génétique est impératif en raison de la fréquence des formes associées ou syndromiques.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P515 - DIAGNOSTIC ANTENATAL DES ANEUPLOÏDIES PAR CGH-ARRAY A PARTIR D'ADN ISSU DE SURNAGEANT DE LIQUIDE AMNIOTIQUE

A Vigouroux-Castera (1), L Bouneau (1), G Bourrouillou (1), R Molignier (1), N Chassaing (1), S Julia (2), P Calvas (1)
1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France
2. service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France

La CGH-array est majoritairement utilisée à l'heure actuelle en France pour le diagnostic post natal des anomalies chromosomiques déséquilibrées dont la taille est inférieure au degré de résolution du caryotype. Elle permet de plus une analyse pan-génomique des variations de quantité de matériel chromosomique. Dans le but d'étendre son champ d'application, nous avons évalué la technique dans le contexte du diagnostic anténatal.

La CGH-array réalisée à partir de l'ADN des amniocytes du liquide amniotique (LA) après mise en culture a déjà démontré son efficacité, mais nécessite un temps d'attente pour les patientes de plusieurs semaines. La réalisation d'hybridations directes à partir de cellules fraîches non cultivées permet l'obtention plus rapide du résultat. Nous avons voulu évaluer la faisabilité de la technique à partir de l'ADN fœtal libre présent dans les surnageants de LA, qui en plus de rendre des résultats plus rapides, permettrait de suppléer aux éventuels échecs de culture.

Afin de limiter les difficultés d'interprétation liées à la découverte de très petits remaniements nous avons limité l'étude au diagnostic des aneuploïdies à l'aide de puces BAC (5000 clones CytoChip BlueGnome). L'ADN a été extrait de surnageants de LA congelés (-20°C) à l'aide du Kit QIAamp DNA Blood Maxi kit (Qiagen). Les microréseaux ont été hybridés selon les recommandations du fournisseur en Dye-Swap avec un ADN témoin. Les résultats ont été comparés avec ceux obtenus par le caryotype réalisé à partir des cellules des mêmes LA. L'interprétation des résultats de CGH et du caryotype a été faite en aveugle par des observateurs distincts. 28 LA ont été sélectionnés.

Tous les ADNs obtenus ont été hybridés, malgré des critères de qualité et de quantité très insuffisants selon les critères requis pour le diagnostic post natal. 27 résultats sont concordants avec ceux du caryotype. 16 LA étaient sans anomalie, 12 porteurs d'aneuploïdie (4 trisomies 21, 3 trisomies 18, 3 trisomies 13, un triploX (47,XXX) et une monosomie X (45,X)).

La technique est donc utilisable pour le diagnostic des aneuploidies. La qualité des hybridations est cependant très variable, toujours inférieure aux critères de qualité nécessaires au diagnostic post natal, et même totalement ininterprétable dans 1 cas sur 28. Le seuil de sensibilité requis pour le diagnostic des aneuploïdies ne permet donc pas d'extrapoler cette technique à la recherche de remaniements de taille plus limitée, en particulier du fait de la qualité des ADNs.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P516 - ETUDE PAR CGH ARRAY DE DEUX CHROMOSOMES MARQUEURS SURNUMERAIRES ASSOCIES A DES FAUSSES COUCHES SPONTANEES

N Guediche (1), L Tosca (1), M Nouchy (2), L Lecerf (3), D Cornet (4), S Brisset (1), M Goossens (3), G Tachdjian (1)
1. Service d'Histologie-Embryologie et Cytogénétique, Hôpital Antoine Béclère, 92141 Clamart, France
2. Service de Génétique, Laboratoire EYLAU, 92200 Neuilly Sur Seine, France
3. Plateforme de Génomique IMRB 955, Hôpital Henri Mondor, 94010 Créteil, France
4. Gynécologie Obstétrique, 10 rue Jean Richepin, 75116 Paris, France

Etude par CGH array de deux chromosomes marqueurs surnuméraires associés à des fausses couches spontanées

Array CGH analysis of two small supernumerary marker chromosomes associated with recurrent spontaneous abortions

Mots clés : chromosomes marqueurs surnuméraires, fausses couches spontanées, infertilité, CGH array

Les anomalies chromosomiques constituent une cause étiologique majeure des troubles de la reproduction. Les chromosomes marqueurs surnuméraires (CMS) sont des chromosomes de structure anormale qui ne peuvent pas être identifiés par les techniques de cytogénétique classiques. Leur fréquence est de 0.3-0.5/1000 et ils peuvent être associés à des phénotypes normaux ou anormaux. Une incidence plus élevée des CMS a été observée chez des patients présentant des troubles de la fertilité.
Nous présentons la caractérisation par hybridation génomique comparative sur puce (CGH array) de deux CMS présents chez une patiente dans un contexte d'infertilité. Le couple âgé de 28 ans a été adressé pour un bilan de deux fausses couches spontanées (FCS) successives. L'histoire familiale était sans particularité chez l'homme. La mère de la femme avait cinq enfants bien portants et avait eu quatre FCS.
Les techniques de cytogénétique conventionnelle ont mis en évidence un caryotype 46,XY normal chez l'homme. Chez sa femme, nous avons observé une mosaïque cellulaire associant une lignée féminine 46,XX normale et deux autres lignées cellulaires comportant un ou deux CMS. Ces résultats définissaient une formule chromosomique 48,XX,+2mar[24]/47,XX,+mar[5]/46,XX[3]. L'étude par CGH array (Agilent 244K) a montré un gain des régions chromosomiques 6p11.2q11.1 (5.4 Mb), 6q11.1q12 (3.6 Mb) et 20p11.21 (3.3 Mb). Une étude par hybridation in situ fluorescente avec des sondes d'ADN spécifiques des chromosomes 6 et 20 a confirmé les résultats de CGH array et a montré qu'un CMS dérivait du chromosome 6 (CMS(6)) et que l'autre CMS dérivait du chromosome 20 (CMS(20)). Les CMS(6) et CMS(20) présents chez la patiente étaient responsables de la duplication de 42 gènes. Parmi ces gènes, le gène THBD (thrombomodulin) code pour la thrombomoduline qui est une protéine jouant un rôle crucial dans la coagulation et le développement embryonnaire précoce. Des études récentes ont montré qu'un défaut d'expression pourrait être responsable d'une insuffisance trophoblastique ainsi que de la formation de microthrombi dans la vascularisation placentaire. Les éventuelles modifications de l'activité de la thrombomoduline secondaire à la duplication du gène chez cette patiente pourraient être impliquées dans la pathogénèse de ses pertes fœtales.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P517 - GENETIC MALE INFERTILITY FIELD: ROLE OF CLASSICAL CYTOGENETIC TECHNIQUES AT THE ERA OF GENOMICS AND PROTEOMICS NEW TOOLS

N Abdelmoula Bouayed (1)

1. Laboratoire d'histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie

Background: Male infertility is a major reproductive health problem and spermatogenesis defects seem to be multifactorial involving many environmental, nutritional, behavioural, genetic and epigenetic factors. Despite spermatogenesis is among the most finely regulated processes, few genetic tests are currently routinely used in infertile men and in most of cases, the underlying mechanisms remain obscure. In recent years, enormous progress has been made in genomics and proteomics which offer new tools for better understanding the genetics of male infertility.

The aim of our study was to focus in the powerful role of classical cytogenetic techniques in male infertility.

Methods: We investigated cytogenetically 755 infertile men with azoospermia and oligospermia.

Results: Excluding the category of X and Y chromosomal abnormalities, only 1,32% infertile men were found to have reciprocal translocations: 1,07% among azoospermic men and 1,58% among oligospermic patients. In patients with azoospermia, chromosome 6 and chromosome 4 were the most involved chromosomes with recurrent translocation t(4;6), whereas in oligospermic men, chromosome 11 and 22 were the most involved chromosomes.

Translocations and genomic region including breakpoints will be shown and discussed at the genetic level. New tools of investigation of theses translocations will be exposed.

Conclusion: Although, low frequency of reciprocal translocations, routine cytogenetic analysis of infertile men should be performed to explain infertility and to counsel couples before assisted reproductive techniques. Studies of recurrent break points of these translocations offer a precious opportunity at the scientific level and help molecular biologist to target specific genomic regions and candidate genes.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P518 - EPIDEMIOLOGIE DES FENTES LABIO-PALATINES : EXPERIENCE DU REGISTRE DE MALFORMATIONS CONGENITALES D'ALSACE ENTRE 1995 ET 2006.

B Doray (1), D Badila-Timbolschi (2), D Fattori (3), B Monga (3), B Dott (4), C Cordier (1), I Kauffmann (5), Y Alembik (4), E Schaeffer (4), M Fradin (4), E Le Boette (4), R Favre (6), M Kohler (6), I Nisand (7), B Viville (7), D Astruc (8), B Gasser (9), V Lindner (9), E Flori (4), F Girard-Lemaire (4), H Dollfus (1)

1. Laboratoire de Génétique Médicale EA3949, Faculté de Médecine Fédération de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
2. Fédération de Génétique Médicale, Fédération de Pédiatrie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
3. Laboratoire de Génétique Médicale EA3949, Faculté de Médecine, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
4. Fédération de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
5. Service de Chirurgie Infantile, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
6. Département de Médecine Foetale, CMCO-SIHCUS, Hôpitaux Universitaires, Schiltigheim, Strasbourg, France
7. Département de Gynécologie Obstétrique, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
8. Département de Pédiatrie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
9. Laboratoire de Foetopathologie, Hôpital Emile Muller, Mulhouse, France

Objectifs - Analyse des données cliniques et épidémiologiques des fentes oro-faciales et évaluation du diagnostic prénatal.
Matériels – Méthodes – Etude rétrospective à partir des données du Registre de Malformations Congénitales d'Alsace (département du Bas-Rhin) entre 1995 et 2006.
Résultats – 321 fentes sont collectées (prévalence globale de 2,1 pour 1000 naissances), dont 204 fentes labiales et labio-palatines (FL±P) et 117 fentes palatines(FP). Le sex-ratio des FL±P est de 1,87 tandis que celui des FP est de 1. Les FL sont plus souvent unilatérales que les FL±P, 79 % versus 59 %. Les FL sont unilatérales dans 79 % des cas (60/76), bilatérales dans 20 % des cas (15/76) et médianes dans 1 % (1/76). 55 % des FL unilatérales sont droites et 45 % sont gauches. Les FL±P sont unilatérales dans 59 % des cas (76/128), bilatérales dans 39 % des cas (50/128) et médianes dans 2 % (2/128). 45 % des FL±P sont unilatérales et 55 % sont gauches.
Les 117 FP sont divisées en 50 fentes totales du palais (43 %) et 67 fentes du seul palais postérieur (57 %); 25 cas (21 %)de séquence de Pierre Robin sont collectés.
66 % des FL±P (134/204) sont associées à d'autres malformations congénitales, s'intégrant dans un syndrome chromosomique dans 31 cas ou dans un syndrome génique ou une association dans 12 cas. 42 % des FP(49/117) sont associées à d'autres malformations congénitales ; une anomalie chromosomique est identifiée dans 12 cas et un syndrome monogénique dans 14 cas.
Parmi les 204 cas de FL±P, 106 sont diagnostiquées par l'échographie anténatale (52 %). Seul 1 de FP cas est diagnostiqué in utero.
Parmi l'ensemble des cas, 263 cas (82 %) sont nés-vivants ; une interruption médicale de grossesse est réalisée dans 50 cas (16 %) tous associés et 8 morts fœtales in utero sont rapportées (2 %).
Conclusion : La prévalence globale des fentes oro-faciales est élevée (2,1 pour 1000 naissances). L'association fréquente à d'autres anomalies congénitales impose la réalisation d'un bilan malformatif et génétique systématique. Le diagnostic prénatal échographique reste difficile avec un taux moyen de détection des fentes labio-palatines d'environ 50 %. Enfin, cette étude confirme les différences épidémiologiques, embryologiques et génétiques des fentes labiales et labio-palatines d'une part, des fentes palatines d'autre part.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P519 - MOLECULAR PRENATAL DIAGNOSIS IN TUNISIA: THERE ARE SEVERAL DIFFICULTIES TO ANSWER PARENTAL ANXIETY AND REDUCE FAMILIAL SUFFERING

N Abdelmoula Bouayed (1)

1. Laboratoire d'histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie

Background: In Tunisia, a vast number of parents with a first child harbouring genetic disease or congenital malformations want reassurance that their next babies are all right genetically. Couples request prenatal diagnosis in order to prepare themselves for abortion or the birth of a child with the same disorder, so that they can continue the pregnancy with reduced anxiety.

The aim of our study was to report on our experience over 11 years in genetic counselling and to highlight strategic and technical difficulties of this practice in our country.

Methods: Among, 600 couples seen at our consultation, a genetic disorder was suspected for 50% of couples. We were able to precise molecular defect for 12% of couples.

Results: We succeed to offer accurate prenatal genetic testing, using amniotic fluid and sequencing, for only 2% of cases.

Oppositely to screening tests and chromosomal prenatal diagnosis, accurate molecular prenatal diagnosis depends on postnatal genetic explorations done for the parents or the first affected baby. The goal is reached for only few couples because of different reasons particularly technical unfeasibility or accessibility and expensive costs of molecular genetic testing carried, generally, abroad.

Conclusion: Helping individuals and couples to achieve their parenting goals with reduced anxiety, is essential. For this, application of exome sequencing and CGH array as well as PCR real time should be introduced to our country, as soon as possible to resolve problems of birth defects and genetic disorders of unknown cause.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P520 - LES GENES HSFY DANS L'INTERVALLE AZFB DU CHROMOSOME Y HUMAIN NE SONT PAS NECESSAIRE POUR LA MATURATION DES CELLULES GERMINALES MEIOTIQUES PENDANT LA SPERMATOGENESE.

E Kichine (1), V Rozé (2), J Di Cristofaro (3), D Taulier (4), A Navarro (4), E Streichemberger (1), F Decarpentrie (1), C Metzler-Guillemain (1), N Levy (4), J Chiaroni (3), V Paquis-Flucklinger (5), F Fellmann (6), MJ Mitchell (1)

1. Inserm UMR 910, Aix-Marseille Université, Marseille, France
2. Service de Génétique Biologique- Histologie – BDR et CECOS, CHU Besançon, Besançon, France
3. UMR 6578, CNRS-EFS-Aix-Marseille Université, Marseille, France
4. Departement de Génétique médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, AP-HM, Marseille, France
5. Service de Génétique médicale, CHU Hôpital Archet 2, Nice, France
6. Service of medical genetics, CHU Vaudois, Lausanne, Suisse

INTRODUCTION: Des grandes délétions récurrentes de l'intervalle AZFb (azoospermia factor b) du chromosome Y humain sont associées à une absence de spermatozoïdes éjaculés en conséquence d'un arrêt de maturation qui bloque la progression des cellules germinales pendant la méiose (les spermatocytes). La rareté extrême des délétions AZFb partielles a empêché l'identification d'un ou des facteurs nécessaires pour réussir les étapes méiotiques. L'intervalle critique pour ces facteurs, défini par deux délétions chevauchantes (AZFc et b1/b3) est autour de 4 Megabases et contenient 13 gènes codants: CDY2, XKRY, HSFY1, HSFY2, CYORF15A, CYORF15B, KDM5D, EIF1AY, RPS4Y2 et quatre copies du gène RBMY. RESULTATS: Nous avons recherché les délétions du chromosome Y dans une groupe de 1186 hommes des couples infertiles venant de trois centres français de la procréation médicalement assistée (Marseille, Besançon et Nice). Nous avons identifié trois hommes oligozoospermiques et un homme azoospermique qui portent une délétion identique de 768 kilobases. Cet intervalle délétionnel inclut seulement deux gènes codants, les deux gènes HSFY (Heat-shock factor on the Y). La délétion n'est pas encore publiée ou répertoriée dans les bases de données. La définition des points de cassures a révélé un chevauchement de seulement 4 paires de base d'identité nucléotidique, indiquant que ces délétions ne sont pas récurrentes et indépendantes, mais au contraire sont des descendantes d'une délétion fondatrice. Malgré le fait que ces quatre hommes ne sont pas apparentés, nous avons trouvé qu'ils portent la même délétion sur le même haplogroupe du chromosome Y, un haplogroupe fréquent (30%) dans le sud de la France. Cette délétion était absente de 1179 homme témoins. CONCLUSION: Bien que la délétion-HSFY ait restreint à notre groupe infertile, elle a clairement été transmise naturellement sur plusieurs générations, indiquant que normalement les gènes HSFY n'améliorent que légèrement l'efficacité de la spermatogenèse. Significativement, par contre, notre étude permet d'exclure formellement que les gènes HSFY sont des facteurs AZFb nécessaire à la méiose.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P521 - DIAGNOSTIC PRENATAL D'UNE MICRODUPLICATION 22Q11.2 SUITE A LA DECOUVERTE D'UNE FENTE LABIO-ALVEOLAIRE

ML Maurin (1), G Benoist (2), O Raoul (1), M Pic (1), C Fournel (1), S Romana (1), M Vekemans (1), V Malan (1)
1. Service de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

La région 22q11.2 est sujette à de multiples réarrangements récurrents causés par des recombinaisons homologues non alléliques entre duplicons. Parmi ces remaniements, la microdélétion 22q11.2 est la plus fréquente. Elle est à l'origine du syndrome vélocardiofacial/DiGeorge. Plus récemment, de nombreux cas de microduplications « miroir » de ces microdélétions ont été rapportés dans la littérature mais seulement deux, à notre connaissance, à l'occasion d'un diagnostic prénatal.

Nous rapportons ici le cas d'une patiente âgée de 30 ans adressée suite à l'échographie de dépistage du 2ème trimestre pour la mise en évidence d'une fente labio-alvéolaire gauche sans anomalie du palais primaire. Compte tenu de la position fœtale lors de l'examen, l'étude du palais secondaire n'a pas pu être effectuée en mode volumique. Le reste de l'examen morphologique fœtal a permis de déceler une artère ombilicale unique et un aspect inhabituel du thymus paraissant de petite taille. Un caryotype fœtal à partir de cellules amniotiques a été réalisé ainsi qu'une hybridation in situ avec une sonde de région 22q11.2. L'étude par FISH a révélé une microduplication au locus du gène TBX1 sur les noyaux interphasiques analysés. Les examens cytogénétiques sont en cours de réalisation chez les parents.

La microduplication 22q11.2 est associée à un phénotype très variable comprenant des troubles cognitifs, une dysmorphie faciale, une insuffisance vélopharyngée avec ou sans fente palatine, des cardiopathies et des anomalies urogénitales. Cependant, la fente labio-alvéolaire n'a jamais été rapportée à notre connaissance.

Cette observation illustre la variabilité phénotypique observée dans les microduplications 22q11.2 et soulève la question de proposer une recherche d'un microremaniement 22q11.2 en cas de fentes labio-alvéolaires décelée en anténatal.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P522 - DIAGNOSTIC PRENATAL D'UN DERIVE DE TRANSLOCATION RESULTANT D'UNE SEGREGATION ADJACENTE-2 D'UNE TRANSLOCATION (14Q;21Q) NON ROBERTSONIENNE.

ML Maurin (1), O Raoul (1), C Alby (2), H Der Sarkissian (1), S Chevallier (1), S Romana (1), M Vekemans (1), V Malan (1)
1. Service de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

La ségrégation adjacente 2 correspond à un type très rare de ségrégation des translocations réciproques équilibrées lors de la méiose. L'un des deux chromosomes remaniés est transmis avec son propre homologue. Il existe donc une trisomie / monosomie des segments centriques des chromosomes remaniés sans déséquilibre des segments transloqués.

Nous rapportons ici le cas d'un dérivé de translocation adjacente-2 découvert chez un fœtus lors d'un diagnostic prénatal chromosomique chez une patiente âgée de 30 ans. Celui-ci a été réalisé en raison de la découverte à l'échographie fœtale du 3ème trimestre d'un rein pelvien droit associé à un retard de croissance intra-utérin. Il existait par ailleurs un épaississement myocardique, une lame d'ascite et une légère dilatation ventriculaire à 10.5 mm. Le caryotype fœtal a montré la présence d'un chromosome 21 remanié correspondant à un dérivé d'une translocation non roberstonienne entre les bras longs d'un chromosome 14 et d'un chromosome 21. Le fœtus est donc porteur d'une trisomie 14q partielle proximale et d'une monosomie 21q partielle proximale. Après la consultation de conseil génétique, le couple a demandé une interruption médicale de grossesse qui a été effectuée à 34 SA et 3 jours. Les caryotypes parentaux ont révélé chez le père la présence d'une translocation équilibrée non robertsonienne entre les bras longs d'un chromosome 14 et d'un chromosome 21. Le fœtus a donc hérité de la translocation paternelle à l'état déséquilibré résultant d'une ségrégation adjacente-2.

Lors de la grossesse suivante, l'échographie réalisée à 12 SA a révélé la présence d'une artère ombilicale unique. Le caryotype fœtal réalisé à partir du trophoblaste a mis en évidence le même dérivé de la translocation paternelle conduisant à une nouvelle interruption médicale de grossesse.

Chez un individu porteur d'une translocation équilibrée, la formation de gamètes déséquilibrés du fait d'une ségrégation adjacente-2 est très rare. En effet, il existe le plus souvent un déséquilibre génomique important précocement létal. Les facteurs favorisants les non-disjonctions de ce type sont l'implication d'au moins un chromosome acrocentrique dans la translocation ou de segments centriques courts ou porteurs d'une constriction secondaire comme pour le chromosome 9.

Le phénotype du fœtus sera comparé à un autre cas similaire rapporté dans la littérature. Cette observation montre que ce diagnostic doit être évoqué lors de la mise en évidence d'un remaniement impliquant un chromosome acrocentrique, surtout en situation de diagnostic prénatal.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P523 - DIAGNOSTIC PRENATAL DU PHENOTYPE DE BINDER CHEZ LES MERES ATTEINTES DE MALADIES AUTO-IMMUNES

E Colin (1), R Touraine (2), JM Levaillant (3), L Pasquier (4), F Boussion (5), M Ferry (6), A Guichet (7), M Barth (1), A Mercier (1), M Gérard-Blanluet (8), S Odent (9), D Bonneau (7)

1. Service de Génétique, CHU Angers, Angers, France
2. Service de génétique, CHU Saint Etienne, Saint Etienne, France
3. Service de gynécologie et obstétrique, APHP Antoine Béclère, Clamart, France
4. Service de génétique, CHU Rennes, Rennes, Finlande
5. Service de gynécologie et obstétrique, CHU Angers, Angers, France
6. Service de radiologie, CHU Rennes, Rennes, France
7. Service de génétique, CHU Angers, Angers, France
8. Service de génétique, APHP Robert Debré, Paris, France
9. Service de génétique, CHU Rennes, Rennes, France

Le phénotype Binder (BP), également appelée dysplasie maxillo-nasale ou dysostose naso-maxillaire est un trouble rare du développement affectant principalement la partie antérieure du maxillaire et le complexe nasal. Les étiologies de ce phénotype sont multiples et hétérogènes allant de causes génétiques aux pathologies maternelles pendant la grossesse. Le BP peut être diagnostiqué précocement durant la grossesse lors du suivi échographique et il est important d'établir son étiologie afin d'évaluer le pronostic fœtal.

Nous rapportons quatre observations prénatales de fœtus avec un BP et pour lesquels les mères sont porteuses d'une pathologie auto-immune.

Observation 1 : mise en évidence à 19SA d'un profil de type Binder et d'une chondrodysplasie ponctuée chez un fœtus féminin. La mère, âgée de 25 ans, est suivie pour un lupus érythémateux systémique, avec des anticorps anti-SSA et anti nucléosome, et pour lequel elle est traitée. Une amniocentèse est réalisée et le caryotype fœtal ainsi que le bilan métabolique sont normaux. A la naissance le BP ainsi que les ponctuations épiphysaires sont retrouvés chez le nouveau-né. A 4 ans l'enfant a un développement psychomoteur normal.

Observation 2 : mise en évidence à 14.5SA d'un profil de type Binder chez un fœtus féminin. La mère, âgée de 26 ans, est suivie depuis l'âge de 21 ans pour un lupus érythémateux systémique, avec des anticorps anti-RNP, pour lequel elle est traitée. Un caryotype fœtal est réalisé après amniocentèse et montre une formule chromosomique normale. Le BP est confirmé à la naissance. Le développement de l'enfant est normal à 3 ans.

Observation 3 et 4 : lors du suivi échographique de 2 grossesses d'une femme suivie pour un syndrome SHARP avec des anticorps anti-RNP et anti-phospholipides,il est mis en évidence un BP avec une chondrodysplasie ponctuée chez des fœtus masculins. Les caryotypes fœtaux étaient normaux ainsi que le séquençage du gène de l'arylsulfatase E. La première grossesse a été interrompue et l'examen foetopathologique a confirmé les signes précédemment décrits. De la deuxième grossesse est né un garçon avec un BP et une chondrodysplasie épiphysaire qui présente un développement psychomoteur normal à 20 mois.

Nous repréciserons les critères prénataux diagnostiques d'un BP (Levaillant et al.) ainsi que la démarche diagnostique prénatale lors de sa mise en évidence échographique. La détermination de l'étiologie, en effet, est importante afin de donner un conseil génétique.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P524 - DIAGNOSTIC PRENATAL ET DEVENIR DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES. DONNEES DU REGISTRE DE MALFORMATIONS CONGENITALES D'ALSACE (FRANCE) ENTRE 1995 ET 2006

B Doray (1), D Badila-Timbolschi (2), D Fattori (3), B Monga (3), C Cordier (1), B Dott (4), Y Alembik (4), M Fradin (4), E Le Boette (4), E Schaeffer (4), D Astruc (5), R Favre (6), M Kohler (6), I Nisand (7), B Viville (7), B Gasser (8), V Lindner (8), E Flori (4), F Girard-Lemaire (4), H Dollfus (1)

1. Laboratoire de Génétique Médicale EA3949, Faculté de Médecine Fédération de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
2. Fédération de Génétique Médicale, Fédération de Pédiatrie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
3. Laboratoire de Génétique Médicale EA3949, Faculté de Médecine, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
4. Fédération de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
5. Département de Pédiatrie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
6. Département de Médecine Foetale, CMCO-SIHCUS, Hôpitaux Universitaires, Schiltigheim, Strasbourg, France
7. Département de Gynécologie Obstétrique, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
8. Laboratoire de Foetopathologie, Hôpital Emile Muller, Mulhouse, France

Objectifs : Description des circonstances de diagnostic et du devenir prénatal des dysgonosomies les plus fréquentes. Analyse des facteurs influençant la décision parentale vis-à-vis d'une éventuelle interruption médicale de grossesse (IMG).

Matériels et Méthodes: Etude rétrospective à partir du Registre de Malformations Congénitales d'Alsace (département du Bas-Rhin) entre 1995 et 2006.

Résultats: 108 cas de dysgonosomies sont rapportées parmi les 153644 naissances recensées entre 1995 et 2006. Parmi ces 108 cas, l'on recense 66 cas de syndrome de Turner, 17 cas de syndrome de Klinefelter, 15 cas de syndrome Triplo X et 4 cas de syndrome Double Y.

Concernant 66 cas de syndrome de Turner, 64 sont diagnostiqués en prénatal. Le devenir consiste en 16 % d'enfants nés-vivants, 20 % de morts fœtales in utero et 66 % d'IMG. Les indications du diagnostic prénatal sont : anomalies échographiques (81 %) dominées par l'hygroma colli plus ou moins isolé (78 %), marqueurs sériques anomaux (11 %) et âge maternel augmenté (6 %). Les 64 cas se répartissent en 17 cas de bon pronostic fœtal et 47 cas de pronostic sévère en raison de malformations fœtales et/ou d'un syndrome de Bonnevie-Ulrich. Parmi les 17 cas de bon pronostic, 8 (47 %) aboutissent à une IMG. Le taux d'IMG diminue au cours de la période analysée, passant de 50 % (1995-2000) à 44 % (2001-2006), tandis que la fréquence des consultations de génétique augmente au cours de la même période de 25 à 78 %.

Les 17 cas de syndrome de Klinefelter sont tous diagnostiqués en prénatal. Les principales indications du diagnostic prénatal sont : âge maternel augmenté plus ou moins associé à des anomalies des marqueurs sériques ou de l'épaisseur nucale (52 %), anomalies échographiques isolées (18 %), marqueurs sériques anormaux isolés (18 %), clarté nucale augmentée (6 %) et angoisse maternelle (6 %). Le devenir consiste en 47 % d'enfants nés vivants et 53 % d'IMG. Le taux d'IMG diminue passant de 67 % (1995-2000) à 20 % (2001-2006), tandis que la fréquence des consultations de génétique augmente de 83 à 100 %.

Les 15 cas de syndrome Triplo X sont tous diagnostiqués en prénatal. Les indications du diagnostic prénatal sont : âge maternel augmenté et/ou marqueurs sériques anormaux ou antécédent d'anomalie chromosomique dans la descendance (80 %), clarté nucale augmentée (7 %), antécédent familial de maladie monogénique liée au chromosome X (7 %) et angoisse maternelle (7 %). Le devenir consiste en 86 % d'enfants nés vivants et 14 % d'IMG. Le taux d'IMG diminue passant de 25 % (1995-2000) à 0 % (2001-2006), tandis que la fréquence des consultations de génétique est stable (87 puis 86 %).

Discussion: Cette étude met en évidence une proportion élevée d'IMG après découverte prénatale d'une dysgonosomie. Néanmoins, les taux varient selon le type d'anomalie chromosomique, les circonstances de diagnostic (fortuites ou non) et la prise en charge de la grossesse, avec en particulier la réalisation d'un conseil génétique.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P525 - APPLICATION DE LA TECHNIQUE QF-PCR POUR LE DIAGNOSTIC RAPIDE DES ANEUPLOÏDIES DES CHROMOSOMES 13, 18, 21, X ET Y A PARTIR DE QUELQUES CELLULES FŒTALES MICRO-DISSEQUEES.

R Drouin (1), J Lamoureux (1), A Emad (1), E BenDavid (1), K Chun (2), C Bouffard (1)

1. Service de génétique, Dép Pédiatrie, Fac Méd Sci de la Santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada
2. Genetics Program, North York General Hospital, Toronto, Canada

La technique QF-PCR (quantitative fluorescent-polymerase chain reaction) permet d'identifier des anomalies chromosomiques de nombre dont les trisomies 13, 18 et 21 ainsi que celles des chromosomes sexuels. Ce test constitue une alternative intéressante au FISH express en tant que test rapide de diagnostic prénatal. Les objectifs de ce projet consistent : 1) à valider la technique QF-PCR en tant qu'alternative au FISH express à partir des cellules du liquide amniotique et 2) d'étudier la faisabilité technique du QF-PCR à partir de quelques cellules fœtales obtenues par microdissection. La technique QF-PCR est basée sur l'amplification des courtes séquences répétées (short tandem repeats) ciblées pour les régions chromosomiques d'intérêt à partir de l'ADN extrait des amniocytes. Les amplicons sont ensuite séparés par électrophorèse capillaire et analysés quantitativement pour déterminer la ploïdie de chaque allèle. La première phase de validation a été effectuée en étudiant 65 cas (15 cas normaux 46,XX et 15 cas normaux 46,XY; trois cas 47,XY,+13; un cas 47,XX,+18 et trois cas 47,XY,+18; 13 cas 47,XX,+21 et 12 cas 47,XY,+21; un cas 45,X, un cas 47,XXY et un cas 69,XXX) et a démontré la faisabilité technique du QF-PCR qui se révèle rapide et peu couteuse. De plus, dans le cas de la deuxième phase de notre étude, quelques dizaines de cellules fœtales ont été mélangées avec du sang d'un ou d'une donneuse, elles ont été identifiées immunohistochimiquement à l'aide d'un anticorps dirigé contre les cellules du liquide amniotique, 5 amniocytes ont été micro-disséquées, l'ADN de ces 5 amniocytes micro-disséquées a été purifié et étudié en QF-PCR en passant par une étape préalable d'amplification du génome complet. Même si le signal est plus faible, les résultats sont comparables aux essais avec l'ADN extrait d'un grand nombre d'amniocytes et démontrent la possibilité d'utiliser le test QF-PCR avec quelques cellules fœtales. Jusqu'à maintenant, vingt cas (sept cas normaux 46,XX et sept cas normaux 46,XY; trois cas 47,XY,+21 et trois cas 47,XX,+21) ont été étudiés selon cette approche. Pour tous les cas, il y avait une corrélation entre les résultats de cette technique réalisée avec seulement cinq amniocytes, la technique QF-PCR habituelle en utilisant les cellules du liquide amniotique et les résultats de l'étude cytogénétique standard. En conclusion, la technique QF-PCR s'avère une technique fiable, rapide, peu couteuse pour un diagnostic réalisé à partir de seulement cinq cellules. De plus, la technique QF-PCR est une technique potentiellement applicable pour le diagnostic rapide des aneuploïdies à partir des cellules fœtales présentes dans le sang maternel.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P526 - LE DIAGNOSTIC PRENATAL DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES AU SERVICE DE CYTOGENETIQUE DE L'INSTITUT PASTEUR DU MAROC, 582 CAS. PRENATAL DIAGNOSIS OF CHROMOSOMAL ABNORMALITIES AT THE DEPARTMENT OF CYTOGENETICS, INSTITUT PASTEUR, CASABLANCA. 582 CASES.

L Rifai (1), L Zarouf (1), L Razoki (1), J Aboulfaraj (1), F Largane (1), E Chadli (1)
1. Service de Cytogénétique, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc

Les anomalies chromosomiques sont responsables d'un nombre important de fausses couches ou de fœtus anormaux. Elles peuvent alors se manifester soit par de graves malformations, mettant en jeu le pronostic vital de l'enfant, soit par des anomalies plus subtiles pouvant retentir sur le développement psychomoteur de l'enfant. Le diagnostic prénatal est donc un outil majeur pour la prévention du handicap d'origine génétique.

Dans ce travail, nous rapportons les résultats de diagnostic prénatal chromosomique, établis dans le Service de Cytogénétique de l'Institut Pasteur du Maroc, sur la période allant de Janvier 2005 à Septembre 2011, à propos de 582 cas.

43 caryotypes anormaux ont été dépistés soit 7.4 % des cas. L'anomalie la plus fréquente était la trisomie 21 (46.5 %)

Le caryotype fœtal a été réalisé pour âge maternel avancé dans près de 50 % des cas, ce qui constitue l'indication la plus fréquente, suivie par un test sérique élevé dans 28 % des cas.

Les malformations fœtales avec des signes d'appel échographiques ont motivé la réalisation de 5.8 % des caryotypes fœtaux. La fréquence des anomalies chromosomiques associées à cette indication était de 52.9 %.

Il est à regretter que le devenir des grossesses avec anomalies chromosomiques soit très mal documenté car les mères sont perdues de vue. Un effort particulier reste à faire dans ce domaine, vu les problèmes éthiques et religieux que pose l'interruption médicale de la grossesse, comme dans tous les pays arabo-musulmans. L'instauration d'une stratégie de diagnostic prénatal, voire de diagnostic pré-implantatoire avec une politique adaptée est à discuter.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P527 - DIAGNOSTIC PREIMPLANTATOIRE, QU'EN EST-IL DE LA SITUATION QUEBECOISE?

C Bouffard (1), R Drouin (1)

1. Service de génétique, Dép Pédiatrie, Fac Méd Sci de la Santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada

Depuis le 05 août 2010, le Québec est devenu la première province canadienne et le seul endroit en Amérique du Nord à défrayer les coûts de la fécondation in vitro, ainsi que d'autres services de procréation assistée, aux couples et aux femmes seules. Le diagnostic génétique préimplantatoire (DPI) fait partie des services couverts, à la condition d'être réalisé dans un hôpital agréé, et dans le seul but de diagnostiquer des maladies monogéniques graves et des anomalies chromosomiques ciblées.

Toutefois, malgré les volontés politiques et les besoins des patient(e)s, les infrastructures ne sont pas prêtes à absorber les demandes. Dans ces conditions, et considérant les luttes juridiques entre les gouvernements provinciaux et fédéraux concernant la loi sur la procréation assistée,
un peu plus d'un an après l'annonce de la prise en charge du DPI par le système de santé public, ce dernier a-t-il tenu ses promesses ? Mais surtout, que pensent les praticiens de cette décision ? Selon eux : quelles instances, ou quels types de gouvernance devraienten réguler la pratique ? Quelles seront les répercussions de la loi québécoise dans le reste du Canada ? Quelles sont les maladies ou les circonstances qui pourrait justifier un DPI ? Quelles améliorations proposent-ils à la situation actuelle ? Dans ce contexte, l'objectif de cette recherche était de connaître l'opinion des généticien(ne)s et obstétricien(ne)s québécois(ses) sur ces questions.

Méthodologie – Recherche qualitative (Phase 1 : Projet pilote d'un projet plus vaste étendu à l'ensemble du Canada) : Questionnaire en ligne de 30 questions adressées à 10 obstétricien(ne)s travaillant dans des cliniques de fertilité et 10 généticien(ne)s engagés dans des activités relatives au DPI dans le contexte québécois. Analyses de contenu (questions fermées) et thématique (questions semi-ouvertes).

Résultat : Quoique différentes, les réponses des généticien(ne)s et des obstétricien(ne)s s'avèrent plus complémentaires que divergentes, surtout pour ce qui se rapporte aux modes de gouvernance et aux solutions à apporter. De plus, les obstétricien(ne)s seraient moins restrictifs que les généticiens sur le nombre de maladies qu'il serait souhaitable de diagnostiquer grâce au DPI. Toutefois, tous sont d'accord pour dire que le système n'a pas les ressources humaines et financières nécessaires pour être vraiment efficace.

Conclusion: Malgré certaines difficultés, l'initiative québécoise, oblige plusieurs intervenants médicaux, scientifiques, politiques, juridiques, éthiques, sociaux etc. à coopérer, afin d'assurer des pratiques de DPI efficaces et équitables respectant les plus hauts standards technologiques, ainsi que les valeurs sociale. Toutefois, plusieurs aspects mériteraient d'être amélioré, afin d'éviter des problèmes d'accessibilité et de favoriser le développement de l'entreprise privée et du tourisme reproductif.

POSTER

5. Reproduction, Diagnostic prénatal Diagnostic Préimplantatoire

P528 - STOMATOCYTOSE HEREDITAIRE : UNE CAUSE MECONNUE D'ASCITE FŒTALE

G Morin (1), B Demeer (1), B Gruson (2), S Lanta (3), C Daniliuc (4), P Naepels (3), G Tertian (5), V Picard (6), H Sevestre (7), M Mathieu (1), J Gondry (3)

1. Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU Amiens Picardie, Amiens, France
2. Hématologie Clinique, CHU Amiens Picardie, Amiens, France
3. Centre Gynéco Obstétrique, CHU Amiens Picardie, Amiens, France
4. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, CHU Amiens Picardie, Amiens, France
5. Service d'Hématologie Générale et Oncologique, CHU de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
6. Laboratoire d'hématologie, CHU de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
7. Service d'Hématologie Générale et Oncologique, CHU Amiens Picardie, Amiens, France

La deuxième grossesse de cette patiente de 33 ans est marquée par la découverte au 2ème trimestre d'une ascite fœtale. A 24 SA l'ascite s'accompagnait d'un discret épanchement péricardique et d'un œdème cloisonné de la nuque. Le bilan étiologique réalisé était négatif : bilan infectieux, caryotype (46,XX), recherche chez les deux parents des mutations les plus fréquentes de la mucoviscidose, bilan métabolique, échocardiographie foetale. Il n'était pas noté d'argument en faveur d'une anémie fœtale. L'ascite était ponctionnée retrouvant une cellularité moyenne avec 70% de lymphocytes, des protides à 17.5g/l, une albumine à 14.8g/l, une b2-microglobuline élevée à 5.1mg/l et des IgM non augmentés à 39mg/l. Du fait de la persistance et l'aggravation de l'ascite, le couple se résignait à demander une IMG. Celle-ci était réalisée à 28SA. Sur l'examen anatomopathologique, il était confirmé l'existence d'une ascite très d'environ 500 ml dont l'aspect était séro-sanglant sans anomalie malformative associée. L'examen microscopique des différents organes étudiés était normal.en dehors de la présence d'une calcification ovarienne.

Au décours de l'IMG, il était signalé chez le conjoint de la patiente l'existence d'une hémolyse chronique avec splénomégalie et hyperferritinémie probablement en rapport avec une stomatocytose héréditaire. Cette hypothèse était par la suite confirmée par l'ektacytométrie qui montrait une déshydratation importante des hématies sans diminution de leur déformabilité. Il était aussi constaté une hyperkaliémie. L'histoire familiale de ce patient était négative.

La stomatocytose fait partie des causes d'hémolyse chronique. Son origine est génétique ce qui fait parler de stomatocytose héréditaire. Plusieurs types sont décrits dont deux principaux. Le premier type est associé à une hyperhydratation des hématies qui est secondaire aux mutations du gène EPB72 qui code pour une protéine transmembranaire du globule rouge appelée stomatine. Le second type s'associe à des hématies déshydratées et peut parfois s'accompagner d'une hyperkaliémie. Cette entité est de transmission autosomique dominante et si une localisation génétique a pu être réalisée en 16q23-24, aucun gène causal n'a pour l'instant pu être identifié. Dans la stomatocytose à hématies déshydratées, il est rarement rapporté la possibilité d'une ascite foetale ou néonatale, voire d'anasarque. Dans certains cas l'ascite est spontanément régressive. Dans d'autres cas le pronostic vital de l'enfant ou du fœtus peut être engagé. Le mécanisme de l'ascite ou de l'anasarque est mal expliqué. Il ne semble pas lié à l'anémie fœtale même si un degré modéré d'anémie est présent dans les rares cas publiés. Dans un article de 2009 il est mentionné la possibilité d'anomalies de la nuque dès le 1er trimestre. Même si nous n'en avons pas de preuve absolue, il est vraisemblable que l'ascite présentée par ce fœtus ait été en rapport avec une stomatocytose héréditaire héritée de son père.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P529 - ETUDE COMPARATIVE SUR LE METIER DE CONSEILLER EN GENETIQUE DANS 17 PAYS EUROPEENS

C Cordier (1), U Hosterey-Ugander (2), D Lambert (3), MA Voelckel (4), H Skirton (5)

1. Pôle d'onco-hématologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Klinisk Genetik, Hospital of Göteborg, Göteborgh, Suède
3. Dept of Genetic, Children's University Hospital, Dublin, Irlande
4. Service de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone, Marseille, France
5. Faculty of Heath, University of Plymouth, Tauton, Royaume-Uni

La qualité des soins et de la prise en charge des patients, suivis dans des départements de génétique, doivent être accessibles à tous. Avec l'émergence des nouvelles technologies de diagnostiques moléculaires, les services de génétique subissent une pression croissante et doivent faire face à l'augmentation du nombre de consultations, mais également à la diminution des praticiens généticiens. C'est dans ce cadre que le métier de conseillers en génétique a été créé dans différents pays Européen. La Société Européenne de Génétique Humaine appuie cette demande en optant pour une accréditation du métier afin d'assurer une certaine pratique. Nous avons entrepris une étude descriptive, par le biais d'un questionnaire en ligne, en vue d'obtenir des données concernant le rôle, le système éducatif ainsi que la pratique des conseillers en génétique dans les pays européens. Afin de collecter ces données, nous avons invité des conseillers en génétique en exercice, mais également des responsables de Société Nationale de Génétique Humaine et des praticiens expérimentés, à compléter un questionnaire en ligne relatif à la situation dans leur propre pays. Vingt-huit professionnel ont répondus de 17 pays Européens. Les résultats indiquent une grosse variation en ce qui concerne le nombre de conseillers en génétique, leur rôle et leur formation à travers l'Europe. Au Royaume-Uni et aux Pays-Bas il y a plus de 4 conseillers en génétique par million d'habitants, dans 5 pays on dénombre moins de 1 conseiller par million d'habitants, alors que dans d'autres pays comme la Turquie, la République Tchèque et l'Allemagne on ne recense aucun conseiller en génétique. Il existe des programmes spécifiques aboutissant à cette formation dans 7 pays mais seule la France est dotée d'un décret relatif à l'exercice de la profession. Nous souhaitons présenter ces résultats et d'autres élémenrs de l'étude afin de démontrer la disparité de la formation, de la pratique et de l'utilisation des conseillers en génétique à travers l'Europe.Cette étude montre l'importance de la mise en place d'une accréditation Européenne des conseillers en génétique.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P530 - ETUDE COMPARATIVE DU METIER DE CONSEILLER EN GENETIQUE ENTRE LA FRANCE ET LE CANADA

C CORDIER (1), M EDMONT (2), E LE BOETTE (3), MA VOELCKEL (4)

1. Service d'Hémato-oncologie, Hospices civils, Strasbourg, France
2. service de Génétique Médicale, hôpital universitaire, Montréal, Canada
3. service de Génétique Médicale, hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
4. service de Génétique Médicale, Timone, marseille, France

Les conseillers en génétique sont des professionnels de la santé spécialisés et expérimentés dans les différents domaines de la génétique et plus particulièrement dans celui du conseil en génétique. Ils travaillent au sein d'une équipe pluridisciplinaire sous la responsabilité d'un médecin qualifié en génétique. En France, la profession de conseiller en génétique a été créée récemment (premiers diplômés 2005) pour faire face à l'augmentation du nombre des consultations de génétique et à la diminution de praticiens hospitaliers formés dans cette spécialité médicale. Au Canada, la profession existe pour les mêmes raisons depuis 1985 sous l'impulsion de quelques personnes exerçant dans le domaine de la génétique, dont une conseillère en génétique formée aux États-Unis, et grâce au soutien des médecins généticiens exerçant dans le pays.

Cette étude franco-canadienne a pour but de comparer la formation, le rôle et les pratiques des conseillers en génétique qui exercent dans chacun de ces deux pays. Pour cela un questionnaire a été envoyé par e-mail aux membres de l'Association Française des Conseillers en Génétique (AFCG), de l'Association Canadienne des Conseillers en génétique (CAGC) et de l'Association des Conseillères et Conseillers en Génétique du Québec (ACCGQ). Les données ont été recueillies au cours du 1er semestre 2011.

Au total, 54 conseillers en génétique (38 Français et 17 Canadiens) ont accepté de participer à cette étude. Si des similitudes ont émergé, comme par exemple au niveau de la formation, nous préciserons également les différences observées, notamment au niveau des responsabilités et des pratiques au sein des équipes pluridisciplinaires.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P531 - UN PAS VERS LA DEMARCHE QUALITE DANS UN LABORATOIRE DE GENETIQUE MOLECULAIRE : L'HABILITATION DU PERSONNEL TECHNIQUE

MR Durou (1), F Batusanski (2), S Le Provost (3), F Cabillic (3), C Bendavid (4), V David (1)
1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Pontchaillou, Rennes, France
2. Laboratoire de Biochimie, CHU Pontchaillou, Rennes, France
3. Cellule Qualité des Laboratoires, CHU Pontchaillou, Rennes, France
4. Service de Biochimie, CHU Pontchaillou, Rennes, France

Le chapitre 5 de la norme 15189 décline les exigences relatives à l'habilitation des personnels médicaux et non médicaux des laboratoires de biologie médicale.
Le responsable du laboratoire doit en effet désigner-habiliter un responsable et un suppléant pour chaque fonction-activité clé de celui-ci, ce qui impose un travail d'analyse initial important pour définir préalablement l'ensemble des fonctions-activités du laboratoire, et établir pour chacune d'elles les compétences requises sous forme de grille.

Dans le laboratoire de génétique moléculaire du CHU de Rennes nous avons mis en place les différentes étapes de l'habilitation du personnel technique :

La première étape est la définition du périmètre de chaque activité du laboratoire :
Une activité à habiliter peut être :
- Restreinte : ex : Ranger une boite de stockage d'ADN dans un congélateur -80°C
- Equivalente à un poste de travail
- Large : ex : Rechercher les mutations du gène de la mucoviscidose

Il doit en outre lui correspondre un document qualité (ex : une Instruction de travail IT) ou plusieurs documents qualité (ex : un ensemble d'IT), ou encore une partie d'un document qualité (ex : une partie d'IT).
Il est aussi nécessaire de trouver un juste milieu entre des habilitations trop larges, difficiles à mettre en place, et des habilitations trop restreintes, génératrices de nombreux documents.

La seconde étape est l'établissement des niveaux d'habilitation :
Nous avons défini quatre niveaux d'habilitation par activité :
- Débutant : Tout nouvel arrivant.
- Autonome : Personnel technique maîtrisant l'activité considérée.
- Confirmé : Personnel technique maîtrisant l'activité considérée et justifiant d'une expérience lui permettant d'assurer la formation d'un « débutant ».
- Référent : Personnel technique maîtrisant l'activité considérée et justifiant d'une expérience lui permettant d'assurer la formation d'un « débutant » et ayant les compétences nécessaires pour conseiller, dépanner un « confirmé ». Il est l'interlocuteur privilégié sur l'activité.

La troisième étape est l'établissement d'un logigramme permettant de schématiser notre conception de l'action d'habilitation.

Conclusion :
L'habilitation ne doit pas être considérée comme une contrainte normative, mais avant tout comme un outil de management qui permet de maîtriser l'activité globale du laboratoire, de la gestion du personnel jusqu'aux recrutements, selon des critères objectifs correspondant aux besoins réels de la structure.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P532 - DEMOGRAPHIE DES JEUNES GENETICIENS ISSUS DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES « GENETIQUE MEDICALE, CLINIQUE, CHROMOSOMIQUE ET MOLECULAIRE » (DES 48)

M Legendre (1), I Marey (2)
1. Génétique médicale, CHU Poitier, Poitier, France
2. Génétique Médicale, Hôpital Necker, Paris, France

Lors des dernières Assises de Génétique Humaine et Médicale en 2010, nous avons présenté la démographie des jeunes généticiens issus du Diplôme d'Etudes Spécialisées « Génétique Médicale, Clinique, chromosomique et moléculaire » (DES 48) créé en 1995 avec 91 inscrits et nous vous proposons aujourd'hui d'actualiser ces informations pour l'année 2011.

Depuis l'arrêté du 04 aout 2010 déterminant le nombre d'internes à former en médecine par spécialité, la génétique médicale a accueilli 14 nouveaux internes en deux ans avec comme projet l'ouverture de 90 postes d'internes en génétique médicale sur 4 ans dans toute la France. Actuellement 28 internes sont en cours de formation au niveau national s'orientant principalement vers la génétique clinique ou vers une activité mixte : clinique-biologie moléculaire ou clinique-fœtopathologie. Sur ces 2 dernières années, 7 internes ont fini leur internat et se sont orientés vers principalement la génétique clinique. La mise à jour de la situation des jeunes généticiens et des anciens internes du DES de génétique porte sur la répartition géographique, les orientations professionnelles (clinique, chromosomique, moléculaire), les différents stages effectués dans la maquette du DES, et ainsi que les études universitaires réalisées en parallèle (DU, DIU, master 2). Toutes ces informations seront présentées en détail sur un poster.
Une réforme en cours portant sur l'organisation des DES en général propose une modification de la formation des internes commençant leur formation en novembre 2012 ou 2013. Cette dernière consiste à compléter au maximum la formation pratique d'un interne dans sa spécialité. La proposition de maquette faite pour le DES 48 serait : 4 ans d'internat et 2 ans de post-internat sous forme d'un assistanat avant de soutenir le mémoire de DES. Au final, d'importants changements sur la répartition et la formation des futurs généticiens se profilent et ces informations pourront être utiles d'une part pour les futures internes intéressés par cette spécialité et d'autre part pour la décision d'ouverture de poste d'internes et d'assistants pour accueillir au mieux les internes en cours de formation.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P533 - UNE DUPLICATION DE 20PB IDENTIFIEE EN 3'UTR DE MSH6 DANS DES FAMILLES FRANÇAISES PRESENTANT UN SYNDROME DE LYNCH, AFFECTE L'EFFICACITE DE POLYADENYLATION DE L'ARNM DE MSH6.

E Chipoulet (1), A Decorsieres (2), C Delmas (3), G Favre (4), F Fouque (4), R Guimbaud (1), S Millevoi (3), P Pujol (5), JM Rey (5), J Selves (6), AF Tilkin-Mariamé (3), C Toulas (4), S Vagner (3)

1. Oncogenetique, Institut Claudius Regaud- CHU Purpan, Toulouse, France
2. INSERMU1037, Institut Claudius Regaud, toulouse, France
3. INSERMU1037, Institut Claudius Regaud, Toulouse, France
4. Laboratoire d'Oncogenetique, Institut Claudius Regaud, Toulouse, France
5. Oncogenetique, Hopital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
6. Service d'anatomie et cytologie pathologiques, Hopital Purpan, Toulouse, France

Le but de ce travail était de déterminer la prévalence des variants de MSH6 dans la région 3'UTR au sein de familles à haut risque de cancer colorectal et leur possible causalité. Pour cela, nous avons séquencé la région 3'UTR de MSH6 dans une population de 189 patients dont les familles répondaient aux critères d'Amsterdam ou présentaient une importante histoire de cancer colorectaux associés à une instabilité microsatellitaire. Nous avons mis en évidence dans deux familles la présence de la duplication de la même séquence localisée en c.*49-69 sur le gène MSH6 sur deux positions adjacentes (c.*47-67InsTTCAGACAACATTATGATCT et c.*48-68 Dup) dans la région proche du signal de polyadenylation. Nos résultats démontrent que la présence de cette duplication de 20pb (Dup20pb) affecte l'expression de l'ARNm de MSH6 in vivo. De plus, en utilisant des plasmides reporters portant la région 3'UTR de MSH6 et incluant une ou plusieurs copies de cette Dup20pb, transfectés dans diverses lignées cellulaires, nous démontrons que cette Dup20pb décroit l'expression de l'ARNm de MSH6 en réduisant l'efficacité de la polyadenylation. L'ensemble de ces résultats suggère donc fortement que cette duplication pourrait être causale dans ces familles. Nos données démontrent également que la recherche de mutations de MSH6 ne doit pas être limitée à la séquence codante du gène et à la recherche des grands réarrangements, mais que l'analyse plus détaillée de la région 3'UTR peut avoir une relevance clinique pour certaines familles.

POSTER
6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P534 - INTERET DE L'IRM CEREBRALE DES PARENTS LORS DE LA DECOUVERTE ANTENATALE D'UNE ANOMALIE CEREBRALE FOETALE. A PROPOS DE DEUX OBSERVATIONS.

V HIMILY (1), C PAILLET (2), C SEMBELY-TAVEAU (3), G HADDAD (4), E LAGRUE (5), J POTIN (4), A TOUTAIN (1)
1. Service de Génétique, CHU Bretonneau, TOURS, France
2. Groupement d'Imagerie Médicale, CHU Bretonneau, TOURS, France
3. Service de Radiologie Pédiatrique, CHU Clocheville, TOURS, France
4. Unité de Médecine Foetale, CHU Bretonneau, TOURS, France
5. Service de Neuropédiatrie, CHU Clocheville, TOURS, France

La découverte échographique anténatale d'une anomalie cérébrale fœtale est une situation fréquente en diagnostic prénatal. Elle pose souvent de difficiles problèmes d'information des parents et de prise de décision face à une éventuelle interruption de grossesse (IMG). Malgré la réalisation d'une IRM cérébrale du fœtus, un doute peut persister quant à la nature de l'anomalie observée, et surtout quant à son pronostic neurologique et cognitif ultérieur. Le terme souvent tardif auquel cette imagerie est faite rend la décision d'IMG, lorsque celle-ci paraît légitime, encore plus difficile et douloureuse pour les parents. La pratique d'une IRM cérébrale des deux parents, très peu diffusée au sein des CPDPN français, peut cependant apporter dans certains cas des informations importantes pour le diagnostic et le conseil génétique. Nous rapportons ici deux observations illustrant l'intérêt de cette pratique adoptée par notre CPDPN depuis de nombreuses années.

Dans le premier cas, il s'agissait de la 3e grossesse d'un couple non apparenté sans antécédent connu. Une agénésie complète du corps calleux (ACC) avec des cornes ventriculaires postérieures dilatées a été découverte fortuitement à l'échographie fœtale de 30 SA et confirmée à l'IRM. Le caryotype fœtal était normal. Une information sur les conséquences potentielles d'une ACC isolée et l'incertitude du pronostic a été donnée au couple, qui ne pouvait envisager une IMG sans certitude d'un pronostic défavorable. L'IRM cérébrale des parents a mis en évidence chez le père une ACC qui a permis de les rassurer. Avec 3 ans de recul, l'enfant a un examen clinique notamment neurologique normal, et un développement psychomoteur en accord avec l'âge.

Dans le 2e cas, l'échographie de 32 SA lors de la 5e grossesse d'un couple non apparenté ayant eu deux fausses-couches précoces, a détecté une méga grande citerne avec un probable kyste arachnoïdien. Le caryotype fœtal était normal 46, XX. L'IRM cérébrale à 34 SA a objectivé une dilatation kystique de la fosse postérieure, avec un vermis petit et refoulé, ainsi que de nombreuses hétérotopies périventriculaires (HNP). L'IRM cérébrale de la mère montrant des HNP bilatérales massives et un kyste arachnoïdien de la fosse postérieure, a confirmé l'hypothèse évoquée d'une forme liée à l'X de HNP. Ce diagnostic a rassuré la famille et a permis la poursuite de la grossesse. L'exploration de la mère, dont l'interrogatoire a révélé a posteriori la notion de canal artériel persistant opéré dans l'enfance, a mis en évidence une dilatation modérée de l'aorte et une thrombopénie. A la naissance, l'enfant avait également un canal artériel persistant et une thrombopénie.

Ainsi, dans les deux cas, le diagnostic de la même anomalie cérébrale chez l'un des deux parents qui était totalement asymptomatique, a permis de mieux renseigner la famille, notamment sur le pronostic, et a été vécu comme un soulagement.

POSTER
6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P535 - EXPRESSION RETINIENNE INATTENDUE SUR TROIS GENERATIONS DE FEMMES, S'AVERANT ETRE CONDUCTRICES DE RETINOPATHIE PIGMENTAIRE LIEE AU CHROMOSOME X.

JP BONNEFONT (1), N DELPHIN (1), S GOBIN (1), J KAPLAN (1), A MUNNICH (1), O ROCHE (2), JM ROZET (1)
1. Génétique - Fondation IMAGINE, HOPITAL NECKER, PARIS, France
2. Ophtalmologie, HOPITAL NECKER, PARIS, France

Introduction : Trois femmes (fille, mère, grand-mère maternelle), demandent une consultation de Génétique Ophtalmologique, devant la répétition d'anomalies rétiniennes découvertes par leur ophtalmologiste : un aspect de « rétine tigrée » inexpliqué. La plus jeune des 3 patientes s'interroge sur le risque encouru par les enfants qu'elle souhaite. Un bilan ophtalmologique et une analyse génétique sont menés afin d'élucider cette particularité phénotypique.

Description des cas : Une patiente de 46 ans consulte en raison d'une baisse progressive de son acuité visuelle à 4/10 ODG, non expliquée par une amétropie mal corrigée. L'exploration clinique objective une chambre antérieure normale, un relevé de son champ visuel normal et un Fond d'œil montrant un aspect inhabituel décrit comme une « rétine tigrée ». L'enquête génétique révèle qu'elle a 2 frères et 1 sœur indemnes de tout problème visuel ainsi que leurs enfants (au total 5 garçons et 4 filles). En revanche, la mère de la patiente, âgée de 68 ans, est porteuse d'une amblyopie unilatérale ancienne, et son FO montre le même aspect que celui de sa fille. Celle-ci a 2 enfants, un fils de 24 ans indemne et une fille de 21 ans porteuse d'une myopie faible et bien corrigée, mais avec un FO identique à celui de sa mère et de sa grand-mère.

Résultats : L'examen clinique des 3 patientes met en évidence 4 notions importantes : 1) la plus âgée est amblyope du fait d'une myopie unilatérale à -9 dioptries, et son ERG est proche de l'extinction. 2) sa fille a une mauvaise vue en rapport avec un kératocône, mais son ERG est normal. 3) La plus jeune des patientes, fille de la précédente a une AV normale, mais son ERG scotopique et photopique est très sévèrement altéré 4) Le FO des 3 femmes objective une importante atrophie rétinienne laissant voir la choroïde et ses vaisseaux expliquant « l'aspect tigré ».
Devant la coexistence de ces données cliniques, une transmission liée à l'X est suspectée, et la recherche d'une mutation du gène RPGR est privilégiée dans cette généalogie de femmes sans homme atteint. Un criblage du gène révèle une délétion de 4 bases dans l'ORF15 de ce gène, conduisant à un codon stop prématuré, présente chez les trois patientes.

Discussion et conclusion : L'existence de manifestations rétiniennes inhabituelles chez des femmes sans antécédent particulier chez des apparentés masculins ne doit pas occulter l'hypothèse d'une transmission liée à l'X. L'existence d'une myopie très asymétrique voire unilatérale, l'expressivité variable et la pénétrance incomplète sont des éléments qui doivent faire suspecter une telle transmission même en l'absence de garçons atteints. Dans la famille décrite ici, la plus jeune des femmes a un risque de 50% d'avoir un fils porteur d'une forme sévère de RP.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P536 - ANALYSE MOLECULAIRE DU GENE MECP2 A PROPOS D'UNE COHORTE DE 15 PATIENTES ALGERIENNES

B imessaoudene (1), S Hallal (1)

1. Laboratoire de Biochimie, CHU Mustapha, Alger, Algérie

Le syndrome de Rett est un grave désordre neurologique (Encéphalopathie) d'origine génétique, qui touche quasi exclusivement les filles et il est à l'origine d'un handicap mental et d'une infirmité motrice.

Ce syndrome est lié à des mutations du gène MeCP2 (methyl-CpG-binding protein 2) localisé en Xq28. Il s'agit d'un gène répresseur ayant un rôle de régulation encore mal précisé.

La perte de la fonction de la protéine Mecp2 pourrait entraîner une surexpression de certains gènes, qui serait dommageable pour le développement du système nerveux central.

La mise en évidence d'une fréquence élevée de mutations dans l'exon 4 et de la récurrence de certaines de ces mutations nous ont amenés à proposer une stratégie de diagnostic moléculaire du syndrome de Rett .
L'étude a porté sur 15 malades admis aux services de neurologie du CHU MUSTAPHA BACHA , de pédiatrie de PARNET et et du service de neurologie de l'hopital de Benaknoun. Ces patientes présentaient tous au moins 2 critères d'inclusion majeurs et un critère mineur du syndrome de Rett.
7 mutations du gène MECP2 ont été répertoriées dans notre laboratoire. Ce sont des mutations déjà décrites dans la littérature et qui sont responsable du phénotype. Aucune corrélation phénotype-génotype n'a pu être mise en évidence.
Mots-clés : Le syndrome de Rett, handicap mental, MECP2, mutations ponctuelles, Autisme.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P537 - MISE AU POINT DE DEUX TECHNIQUES DE SCREENING DU SYNDROME DE L'X FRAGILE EN ALGERIE

B imessaoudene (1), S Hallal (1)

1. Laboratoire de Biochimie, CHU Mustapha, Alger, Algérie

Le syndrome de I'X fragile est la cause la plus fréquente de retard mental héréditaire. Les acquis récents dan le domaine de la biologie moléculaire ont bouleversé l'approche diagnostique de cette maladie.

Le mode de transmission très particulier de ce syndrome (hérédité dominante lié au sexe à pénétrance variable) conduit à un conseil génétique spécifique. En fonction du type et de la taille de la mutation le risque de retard mental dans la descendance peut varier et l'exploration chez les collatéraux ne doit pas être la même.

Nous avons mis au point deux techniques complémentaires pour le screening de ce syndrome ; il s'agit de la méthyl PCR et de la PCR des triplets. Le nombre de triplets CGG est estimé par la technique de southern blot, cette dernière est en cours de réalisation dans notre laboratoire.

On se propose de donner les premiers résultats sur une cohorte de 200 patients : 16 patients atteints (8%) du syndrome de l' X fragile ont été diagnostiqué à ce jour.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P538 - LES ENJEUX PSYCHOLOGIQUES PARENTAUX ET FAMILIAUX LIES AU SYNDROME GENETIQUE D'UN ENFANT. THE PARENTAL AND FAMILY PSYCHOLOGICAL STAKES LINKED TO THE GENETIC SYNDROME OF A CHILD.

Eva TOUSSAINT (1), D LACOMBE (2)

1. Service de génétique, CHU Bordeaux, BORDEAUX, France
2. Génétique médicale, CHU pellegrin Bordeaux, Bordeaux, France

Cette recherche effectuée dans le cadre d'une thèse de psychologie étudie les enjeux psychologiques parentaux et familiaux liés au syndrome génétique d'un enfant. Nous avons souhaité mettre à l'épreuve notre expérience clinique en recherchant si les caractéristiques de certains syndromes génétiques comme le retard mental, la dysmorphie, la maladie génétique pouvaient déterminer les types de réactions psychologiques des parents. Face à l'absence de recherche sur ce sujet, il nous a paru nécessaire de proposer un modèle intégratif pour comprendre les réactions des parents face à l'annonce d'un syndrome génétique. Notre étude s'appuie sur 108 protocoles étudiants des variables prédictives, réactionnelles et des processus d'évaluation. Cela nous a permis d'identifier des variables pouvant influencer les réactions psychologiques des parents. En effet, l'emploi, l'anxiété-trait, la prise en charge psychothérapeutique ou médicamenteuse déterminent les réactions psychologiques des parents. Ces variables, ainsi que le sexe et le fait de faire partie ou non d'une association ont aussi un effet sur les sentiments de culpabilité et d'étrangeté ressentis par les parents. L'attribution causale, elle, est influencée par le temps écoulé depuis le diagnostic et l'existence d'une fratrie. Enfin, ces sentiments de culpabilité et d'étrangeté sont très fortement liés aux états psychologiques étudiés. Les résultats permettent de souligner l'importance pour le psychologue travaillant en génétique de la connaissance de concepts spécifiques (monstruosité, étrangeté/étranger, anormalité, faute, cause…) afin d'aborder la clinique particulière de l'enfant porteur d'un syndrome génétique avec retard mental et dysmorphie.

Mots clés : Mots clés : enjeux psychologiques – parents – famille - retard mental – dysmorphie - syndrome génétique –culpabilité – étrangeté – attribution causale.

POSTER
6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P539 - AMELIORATION DU RECUEIL DES DONNEES PRE-ANALYTIQUES POUR LES DEMANDES D'ANALYSES DES GENES SOD1 ET AR EMANANT DU CENTRE DE REFERENCE DE LA SCLEROSE LATERALE AMYOTROPHIQUE ILE DE FRANCE DU GH PITIE-SALPETRIERE (AP–HP)

C CAZENEUVE (1), N LE FORESTIER (2), E LE GUERN (1)
1. U.F. de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
2. Centre SLA Île de France, Département de Neurologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, PARIS, France

Pour l'examen des caractéristiques génétiques à des fins médicales, la présence du recueil écrit d'éléments cliniques pertinents accompagnant l'échantillon biologique est fondamentale pour l'orientation du choix des analyses et leur interprétation. Cependant, l'absence de renseignement clinique (RC) constitue une non–conformité fréquemment constatée au laboratoire. Malgré l'envoi systématique, depuis plusieurs années, de demande de RC quand la prescription en était dépourvue, une proportion importante de prescriptions nous parvenait encore sans ces RC. Devant ce constat d'échec, nous avons mis en place une étude pilote pour améliorer le recueil des RC pour les demandes d'analyses des gènes SOD1 et AR en collaboration avec le centre de référence de la sclérose latérale amyotrophique du groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière (CR-SLA-PSL).
Une réflexion commune approfondie, impliquant le CR-SLA-PSL, et notamment le médecin responsable des revues de morbi-mortalité pour le pôle Maladies du Système Nerveux, a été engagée pour identifier les causes de cet échec et trouver les moyens d'y remédier. Des actions correctrices ont été menées pour chacune des causes identifiées : une fiche de recueil de RC simple a été élaborée avec les cliniciens concernés ; cette fiche, destinée à être jointe à l'échantillon biologique lors de la demande d'analyse, a été diffusée à l'ensemble des praticiens du service clinique ; il a été décidé que seul le médecin référent du patient (et non l'interne de la salle) prescrirait les analyses de génétique après un conseil génétique approprié ; ayant constaté que de nombreuses lettres ne parvenaient pas aux prescripteurs, nous avons adapté les adresses au mode de distribution du courrier.
Plusieurs mois après ces mesures, la proportion de prescriptions reçues au laboratoire sans RC en provenance du CR-SLA-PSL a diminué de façon très significative ; par ailleurs, les non-conformités par absence d'identification claire du prescripteur ont disparu. De plus, les réclamations liées au problème de distribution du courrier, bien que non tracées dans la base de données du laboratoire, semblent avoir diminué.
Au total, le projet entrepris a démontré l'efficacité de l'implication des services cliniques pour toute démarche qualité les concernant directement, notamment celles traitant des non-conformités pré- et post-analytiques. L'identification du bon interlocuteur dans le service clinique est un facteur essentiel de réussite des actions menées et de pérennisation de la communication entre services.
Le laboratoire étant responsable des examens de biologie médicale dès le prélèvement de l'échantillon biologique (Ordonnance n°2010-49 du 13/01/10), les démarches qualité concernant laboratoires et services cliniques vont s'intensifier ces prochaines années dans le cadre de la démarche d'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189. L'accréditation des laboratoires ne pourra donc pas se faire sans la participation active des services cliniques.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P540 - QUALITY ASSURANCE IN GENETIC TESTING OF HEREDITARY PERIODIC FEVERS (HRFS): GENOTYPING AND BEYOND

Y Shinar (1), I Aksentijevich (2), I TOUITOU (3)
1. FMF Molecular Diagnostics Lab, Sheba medical center, Tel Hashomer, Israel
2. NHGRI/IDS, NIH, Bethesda, USA
3. UMAI, CHRU, Montpellier, France

Background: Quality assurance (QA) schemes for genetic testing are effective in reducing genotyping error rate, improving technical skills and assuring clerical accuracy of the diagnostic lab. Several schemes also assess the ability of a genetic lab to interpret the clinical significance of the genetic variant identified.
Aim: To evaluate and improve the quality of a diagnostic report on HRFs regarding genotyping, interpretation and format via the QA scheme of the European Quality Assurance Molecular Genetics Network (EMQN).
Methods: In 2009 and 2010 DNA samples and mock clinical cases for FMF, TRAPS, MKD and CAPS were distributed for genetic testing via EMQN to the HRF genotyping labs. Reports were returned within 45 days. Scores on genotyping and clerical accuracy comments were assigned according to pre-publicized criteria during both years. The interpretation was scored for the first time in the year 2010.
Results: 47 labs participated in the first QA round and 36 in the second one; most tested for FMF, less than half tested for the rare HRFs (TRAPS, MKD and CAPS). The overall genotyping error rate improved over the two years from 2.2% to 1%. The mean 2010 scheme interpretation score was 1.94 of a maximum 2.00. A common interpretation oversight was alerting on the risk of amyloidosis in a TRAPS mock case that had a mutation predicted to disrupt a protein disulfide bond. Interpretations of clinical significance of a NLRP3 variant were diverse and contradictory. Laboratory practices regarding recommendations for genetic counseling, screening asymptomatic family members and prenatal screening, varied.
Conclusions: The recent 2010 QA scheme revealed high quality genotyping of HRFs however there is a need for established genetic testing guidelines. These guidelines should address reporting on clinical significance of debated mutations, on amyloidosis risk and consensus recommendations for genetic testing of family members in HRFs. This project was supported through Coordination Theme 1 (Health) of the European Community's FP7, Grant agreement number HEALTH-F2-2008-200923, and la Région Languedoc-Roussillon, and by the European Molecular Genetics Quality Network.

POSTER
6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P541 - ANALYSE MOLECULAIRE DU GENE HPS1 CHEZ DEUX PATIENTS PRESENTANT UN ALBINISME OCULOCUTANE

A Rouault (1), E Lasseaux (1), F Morice-Picard (1), C Plaisant (1), C Rooryck (1), C Thibault (2), N Dondaine (3), J Muller (3), JL Mandel (3), D Lacombe (1), B Arveiler (1)
1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France
2. Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS, INSERM, Université de Strasbourg, Illkirch, France
3. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHU Strasbourg Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France

INTRODUCTION :
Le syndrome d'Hermansky-Pudlak (HPS) est une génodermatose hétérogène de transmission autosomique récessive. Il est caractérisé par l'association d'un albinisme oculocutané (OCA), d'une diathèse hémorragique due à une dysfonction des plaquettes et de l'accumulation d'un complexe lipidoprotéique (lipofuscine céroïde) à l'origine de nombreuses complications (fibrose pulmonaire, colite granulomateuse)1. Huit gènes sont impliqués chez l'Homme, dont HPS1 (GenBank NM_000195), localisé en 10q23, responsable du type 1, qui regroupe plus de 50% des cas d'HPS dans le monde.

METHODE :
Deux patients ont été analysés. Le patient 1, d'origine polonaise avec une possible consanguinité, présentait un albinisme associé de façon typique à des anomalies de la coagulation (ecchymoses). Le patient 2, issu d'une union consanguine, était initialement proposé pour OCA non syndromique ; en l'absence de mutation dans les gènes OCA1-4, une cartographie par homozygotie a été réalisée. L'analyse axée sur les régions candidates contenant des gènes impliqués dans les formes d'albinisme syndromique a indiqué la présence d'une homozygotie au locus HPS1. Des mutations ponctuelles de HPS1 ont été recherchées par séquençage direct des 20 exons, ainsi que les jonctions exon-intron, et des micro-réarrangements par CGH-array à haute résolution.

RESULTATS :
Chez les patients 1 et 2, nous avons identifié les mutations c.1189delC/p.Gln397SerfsX2 (exon 13) et c.972delC/p.Met325TrpfsX6 (exon 11) à l'état homozygote, respectivement. Ces deux mutations ont été précédemment décrites2,3.

DISCUSSION :
Le phénotype des patients HPS1 étant très variable, le criblage du gène HPS1 est à envisager chez des patients présentant un albinisme oculocutané plus ou moins sévère associé à des troubles mineurs de la coagulation (hématomes multiples). Le diagnostic d'HPS1 est important du point de vue du conseil génétique et de la prise en charge. En effet une exploration de la fonction plaquettaire est préconisée chez ces patients, et un suivi des fonctions digestive et respiratoire doit être proposé pour un dépistage de la fibrose pulmonaire.

REFERENCES:
1 Wei ML. et al. Hermansky-Pudlak syndrome: a disease of protein trafficking and organelle function. Pigment Cell Res 19(1):19-42, 2006
2 Oh J. et al. Mutation analysis of patients with Hermansky-Pudlak Syndrome: A frameshift hot spot in the HPS gene and apparent locus heterogeneity. American Journal of Human Genetics 62: 593-598, 1998

3 Sandrock K. et al. Compound heterozygous mutations in 2 siblings with Hermansky-Pudlak syndrome type 1 (HPS1). Klin Padiatr 222(3):168-74, 2010

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P542 - L'ANNONCE EN GENETIQUE:CONSTRUCTION D'UN PROTOCOLE.THE GENETICS ANNOUNCEMENT : CONSTRUCTION OF A PROTOCOL

Eva TOUSSAINT (1), F HOUDAYER (2), L JOLY (3), K HERNANDEZ (4)
1. Service de génétique, CHU Bordeaux, BORDEAUX, France
2. Génétique, CHU Lyon, Lyon, France
3. Génétique, CHU Dijon, Dijon, France
4. genetique, CHU Robert Debré, Paris, France

Dans cette communication nous voulons vous présenter le travail commun de psychologues travaillant dans différents services de génétique.
Nous avons dégagé les points clés d'une annonce en génétique, des préalables nécessaires ainsi que les réflexions sur l'annonce très particulière d'une maladie génétique.
Nous présenterons les points essentiels concernant la consultation d'annonce diagnostique, comme par exemple prendre en compte le contexte général dans lequel l'annonce diagnostique va avoir lieu (l'annonce attendue, l'annonce inattendue). Mais aussi prendre en compte la question de la demande.
Puis nous nous attarderons sur l'environnement et sur comment organiser le temps de l'annonce. Quelles personnes sont présentes à ce moment là ? Nous discuterons par exemple la place du psychologue pour ce type de consultation.
Enfin, nous traiterons du contenu et des répercussions psychiques de ce type d'annonce.

Mots clés : Annonce, protocole commun, réflexion, cadre, répercussions psychiques

POSTER
6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P543 - DIAGNOSTIC PRENATAL D'UN SYNDROME D'ANGELMAN PAR MLPA : ASPECT METHODOLOGIQUE ET CONSEQUENCES CLINIQUES

E SCHACHT (1), E CLOSSET (2), V HOUFFLIN-DEBARGE (3), P VAAST (4), JB SAVARY (5), B DE MARTINVILLE (5)
1. Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille et Faculté de Médecine Henri - Warembourg – Université Lille 2 Droit et santé, LILLE, France
2. Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille et Faculté de Médecine Henri - Warembourg – Université Lille 2 Droit et Santé, LILLE, France
3. Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Lille, Hôpital Jeanne de Flandre et Faculté de Médecine Henri -Warembourg – Université Lille 2 Droit et Santé, LILLE, France
4. Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Lille, Hôpital Jeanne de Flandre et Faculté de Médecine Henri -Warembourg – Université Lille 2 Droit et Santé, LILLE, France
5. Laboratoire de Génétique Médicale, CHRU de Lille, Hôpital Jeanne de Flandre et Faculté de Médecine Henri - Warembourg – Université Lille 2 Droit et Santé, LILLE, France

Le syndrome d'Angelman est un syndrome neurocomportemental très sévère résultant d'une absence de contribution maternelle de la région 15q11-15q13 contenant le gène UBE3A (ubiquitin-protein ligase E3A). Différentes étiologies peuvent engendrer ce syndrome : délétion, mutation du gène UBE3A, mutation de l'empreinte et disomie uniparentale. Le dépistage prénatal de ce syndrome n'était jusqu'à présent réalisé qu'en cas d'anomalie familiale connue, chromosomique ou moléculaire. Les techniques de biologie moléculaire comme la MLPA (multiplex ligation-dependent probes amplification ou amplification multiplex de sondes nucléiques dépendante des ligatures) sont en plein essor, car elles ont l'avantage d'être rapides, automatisables et peu onéreuses. La MLPA permet non seulement de diagnostiquer plus rapidement les aneuploïdies que la cytogénétique conventionnelle, mais également d'identifier les déséquilibres génomiques comme les syndromes microdélétionnels. Nous rapportons l'observation d'un dépistage d'un syndrome d'Angelman par MLPA, alors que l'indication de ce diagnostic prénatal était une recherche de trisomie 21. Des investigations complémentaires ont été nécessaires pour confirmer le diagnostic : analyses en cytogénétique conventionnelle et moléculaire et analyses en biologie moléculaire (analyse de méthylation et analyse de liaison. Nous discuterons des conséquences de ce type de dépistage, en particulier au niveau éthique, puisque l'on peut s'interroger sur l'intérêt pour le couple de rechercher d'autres anomalies que celle pour laquelle le dépistage était organisé, c'est-à-dire la trisomie 21, tout en se demandant s'il est éthique de ne pas rechercher une pathologie potentiellement très grave, pas nécessairement très rare, et qui échappe habituellement au dépistage prénatal conventionnel. Le choix de rechercher ou non les syndromes microdélétionnels, au risque d'identifier les syndromes de microduplications, souvent héréditaires et de pronostic moins sévère, devra probablement être laissé aux parents eux-mêmes, après une information claire et appropriée.

MOTS CLEFS : Dépistage prénatal ; MLPA ; aneuploïdie ; syndromes microdélétionnels ; syndrome d'Angelman

TITRE: Prenatal diagnosis of Angelman syndrome by MLPA (multiplex ligation-dependent probes amplification): molecular description and clinical consequences

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P544 - ETUDE DE LA TRANSMISSION DE L'INFORMATION AU SEIN DES FAMILLES BRCA A DISTANCE DU RENDU DE RESULTAT.

C RAMBAUD (1), A DAMETTE (2), A CUEFF (3), F CORON (1), C POPULAIRE (2), C CASSINI (1), F DEBOMY (1), S GAUTHIER (1), C LAROCHE (1), B GEORGES (3), C LOUSTALOT (4), JL SAUTIERE (5), F GUY (4), X PIVOT (6), P FUMOLEAU (4), MA COLLONGE-RAME (2), L FAIVRE (1)

1. Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon, France
2. Unité d'Oncogénétique, Service de Génétique Biologique, CHU, Besançon, France
3. Service d'Oncogénétique, Centre Georges François Leclerc, Dijon, France
4. Service de Gynécologie Oncologique, Centre Georges François Leclerc, Dijon, France
5. Service de Gynécologie, Obstétrique et Reproduction, CHU, Besançon, France
6. Service d'Oncologie Médicale, CHU, Besançon, France

Dans le cadre des consultations mises en place dans le cadre d'une expérience pilote de suivi des personnes prédisposées au cancer Bourgogne-Franche Comté (appel d'offre INCa 2009), la transmission de l'information génétique chez les apparentés du premier degré au sein des familles prédisposées a été étudiée. Les données de 64 femmes ont été récupérées (43 en Bourgogne, 21 en Franche Comté ; 24 cas index, 40 apparentées porteuses). Le délai moyen entre la date du rendu de résultat et la consultation de suivi est égal à 49 mois. L'âge moyen des femmes est de 50 ans.

Concernant la transmission aux enfants, 34/64 femmes ont des enfants majeurs et 98% d'entre eux ont été informés (100% des filles et 96% des fils). 46% d'entre eux ont réalisé un dépistage génétique (69% des filles et 8% des fils). Concernant la transmission à la fratrie, 61/64 femmes ont des frères et sœurs. 100% des sœurs ont été informées et 98% des frères. Au moins 44% ont réalisé un dépistage génétique (65% des sœurs et 19% des frères). Concernant la transmission aux parents, au moins 85% ont été informés (86% des pères et 84% des mères). 59% des mères auraient réalisées un dépistage génétique, et 44% des pères.

Nous avons étudié si le statut de la personne (cas index ou apparenté porteur de la mutation familiale) avait un impact sur la transmission de l'information. On retrouve au moins un apparenté du premier degré non informé chez 4% des cas index, versus 7,5% des apparentés. Considérant cette fois l'âge du patient, 14% des personnes de plus de 60 ans ont au moins un apparenté du premier degré non informé, contre 11% pour les 50/60 ans, 5,5% pour les 40/50 ans, et 0% pour les 30/40 ans. Enfin, si l'on étudie la diffusion de l'information en fonction du caractère symptomatique ou non de la personne, au moins 3% des femmes symptomatiques ont au moins un de leurs apparentés non informé, versus 15% des femmes asymptomatiques. Les causes de non information des apparentés comprennent une mésentente (33%), un souhait de ne pas inquiéter des proches (parents âgés ou déficience mentale, 50%), ou un motif non précisé (17%).

En conclusion, cette étude montre que la diffusion de l'information est très satisfaisante pour les enfants et la fratrie des personnes porteuses de mutation BRCA, quel que soit leur sexe. La transmission aux parents est moins constante. Cette étude confirme que les hommes réalisent ce dépistage génétique de façon beaucoup moins fréquente que les femmes. La transmission de l'information est meilleure chez les cas index, les femmes jeunes, et les femmes symptomatiques. Les motifs de non information ne sont pas reliés à une mauvaise compréhension ou des difficultés à retranscrire les informations à des membres de la famille.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P545 - LA HAUTE FREQUENCE DE LA MUTATION W1327X DU GENE AGL AU CENTRE TUNISIEN: PREUVE D'UN EFFET FONDATEUR D'UN GRAND INTERET POUR LE CONSEIL GENETIQUE POUR LA GLYCOGENOSE DE TYPE IIIA

A MILI (1), M Gribaa (1), O Mamai (1), I Ben Charfeddine (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines., CHU Farhat HACHED., SOUSSE, Tunisie

La glycogénose de type IIIa est une affection autosomique récessive du métabolisme du glycogène due à la déficience de l'activité de l'enzyme débranchant dans le foie et le muscle. Cette anomalie est causée par des mutations sur le gène (amylo-1,6 -glucosidase ou AGL). Certaines de ces mutations semblent spécifiques pour certaine population d'origine ethnique différente. Dans cette étude, nous rapportons une série de patients porteurs de la mutation fondatrice W1327X. Méthodes: Seize familles tunisiennes indépendantes (de la région de Mahdia du centre-est de la Tunisie), dans 20 patients diagnostiqués pour une glycogénose de type III. Résultats: Les investigations biochimiques ont montré une élévation des taux sériques d'aspartate d'aminotransférase, d'alanine aminotransférase, créatine kinase et de triglycéride salors que les taux de lactate et d'acide urique étaient dans la limite normale. Ces patients ont révélé une élévation du taux de glycogène intraérythrocytaire avec une activité enzymatique leucocytaire nulle. L'étude indirecte par génotypage, en utilisant quatre marqueurs microsatellites polymorphes autour du gène AGL, a montré un haplotype commun pour tous ces patients preuve de l'existence d'un effet fondateur. Le séquençage direct de ce gène a permis d'identifié la mutation W1327X a l'état homozygote. Conclusion : Nous avons montré l'existence d'un foyer d'une mutation fondatrice à haute fréquence, ce qui prouve que les descendants de cette région du centre de la Tunisie ont été issus à partir d'un ancêtre commun. Ceci est de grand intérêt pour le conseil génétique et le diagnostic prénatal, améliorant ainsi la consultation génétique de la glycogénose type III en Tunisie.

POSTER
6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P546 - INFORETINO : PROJET D'INFORMATION SUR LA PREDISPOSITION AU RETINOBLASTOME AUPRES DES JEUNES ADULTES AYANT ETE ATTEINTS DANS L'ENFANCE

M Fassy-Colcombet (1), M Gauthier-Villars (1), D Stoppa-Lyonnet (2)
1. Génétique oncologique, Institut Curie, Paris, France
2. Génétique oncologique, Institut Curie, Université Paris Descartes, Paris, France

Le rétinoblastome est une tumeur maligne rare touchant un enfant de moins de 4 ans sur 20 000. On retient que 50% d'entre eux sont porteurs d'une altération constitutionnelle du gène RB1. Ces derniers ont alors un risque sur deux de transmettre cette prédisposition à leurs enfants qui, s'ils sont porteurs, ont un risque proche de 100% d'être atteints. Un enfant à risque doit avoir une surveillance du fond d'œil dès la naissance afin d'éviter l'énucléation.
Plusieurs diagnostics tardifs, chez des enfants dont l'un des deux parents a été atteint dans l'enfance, nous ont conduits à mettre en place un dispositif destiné aux jeunes adultes. Celui-ci a pour objectif de les informer des risques de prédisposition pour leur descendance et des différentes options de prise en charge : diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire ou surveillance néonatale. Le but du projet InfoRétino est donc de reprendre contact avec l'ensemble des patients en âge de procréer, vivant en France, et de les orienter vers une consultation de génétique. Le nombre de personnes concernées est de l'ordre de 1000. Les patients seront contactés par courrier à partir du service dans lequel ils ont été pris en charge dans l'enfance.
Au terme d'une première phase pilote réalisée à l'Institut Curie Paris à partir des 373 patients soignés entre 1961 et 1992, 95 personnes ont pu être contactées. Sur les 373, 166 avaient déjà eu une étude du gène RB1, 93 étaient décédées et pour 19 nous n'avions pas assez d'informations pour une reprise de contact. Sur les 95 patients recontactés, 57 patients n'ont pas donné suite au courrier, 7 courriers nous ont été retournés avec la mention NPAI. 31 patients ont répondu, parmi lesquels 12 (âgés de 18 à 31 ans) ont été orientés vers une consultation de génétique et ont eu une étude du gène RB1. Ces chiffres ne sont pas définitifs car les réponses s'étalent sur un temps très long. Cependant, l'absence de réponse peut correspondre à un report de projet parental, ou à un projet déjà abouti.
Nous envisageons le démarrage du second volet. Celui-ci devrait nous permettre de reprendre contact avec environ 800 anciens patients en passant par les centres hospitaliers, ophtalmologistes, oncologues, pédiatres, prothésistes. Nous organiserons parallèlement une information non ciblée par le biais d'associations comme Rétinostop, de journaux, et du site de l'Institut Curie.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P547 - UN SYNDROME EXCEPTIONNEL : LE SYNDROME CHILD QUEL CONSEIL GENETIQUE POUR LA DESCENDANCE.

F Girard (1), V Kremer (1), J Ohl (2), C Rongières (2), R Happle (3), KH Grzeschik (4), J Vigneron (5), F Rousselet (6), J Steffann (7), E Flori (1)

1. Service de Cytogénétique, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
2. Service de Gynécologie Obstétrique centre d'AMP, CHU Strasbourg, Schiltigheim, France
3. Hautklinik, Universität Marburg, Marburg, Allemagne
4. Zentrum für Humangenetik, Universität Marburg, Marburg, Allemagne
5. Service de médecine néonatale, Maternité régionale de Nancy, Nancy, France
6. Laboratoire de Génétique, Hôpitaux de Brabois, Vandoeuvre les Nancy, France
7. Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Le syndrome CHILD (congenital hemidysplasia with ichthyosiform nevus and limb defects) est un syndrome rare, avec moins de soixante cas rapportés dans la littérature. Il est caractérisé par des lésions cutanées ichtyosiformes unilatérales présentes dès la naissance ou dans les premières semaines de vie associées à une aplasie ou à une hypoplasie ipsilatérale d'expression variable portant essentiellement sur les extrémités, le squelette, le poumon, le cœur, le rein, le cerveau et éventuellement d'autres organes ; l'intelligence est habituellement normale. Dans deux tiers des cas, les atteintes sont localisées à droite et sont moins sévères que les atteintes gauches.

La transmission du syndrome est dominante liée à l'X et létale chez le garçon. Si de rares cas familiaux ont été rapportés, la pathologie est le plus souvent sporadique. Une vingtaine de mutations de tous les types, réparties sur l'ensemble du gène NSDHL (NAD[P]H steroid dehydrogenase-like protein) localisé en Xq28, ont été identifiées. Ce gène code pour une 3 beta hydroxysteroid dehydrogenase intervenant dans la biosynthèse du cholestérol.

Nous rapportons l'observation d'une jeune femme atteinte d'un syndrome CHILD prise en charge en PMA en raison d'une infertilité secondaire : la réponse ovarienne est faible avec, en particulier, une absence de réponse de l'ovaire gauche aux stimulations. La symptomatologie présentée par la patiente est strictement localisée à gauche ; elle comporte une hémiatrophie de l'hémicorps observée dès la naissance, des lésions dermatologiques apparues à l'âge de deux mois, des anomalies squelettiques associant un raccourcissement des membres supérieur et inférieur, une hypoplasie de la sixième côte, une brachymésophalangie avec clinodactylie du cinquième doigt, une surdité de perception unilatérale ainsi qu'un naevus plan au niveau de l'œil gauche.

L'analyse moléculaire du gène NSDHL met en évidence une mutation faux sens c.727G>A;p.V243M échangeant un acide aminé conservé non encore rapportée. Ce variant peut être considéré comme à l'origine de la pathologie car non retrouvé chez 100 individus témoins.

Etant donné l'absence de corrélation génotype-phénotype et la grande variabilité d'expression clinique du syndrome CHILD, avec l'existence de formes très sévères pouvant comporter des amélies, des hypoplasies cérébrales, des atteintes des paires crâniennes et des malformations cardiaques souvent responsables de décès précoces, la place du diagnostic prénatal avec une recherche de la mutation, quand elle est connue, associée à un suivi échographique approfondi de la grossesse, peut être envisagée pour évaluer au mieux le pronostic de l'enfant à naître. De toute façon, le conseil génétique doit toujours être discuté au cas par cas avec les patientes.

POSTER
6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P548 - LA COMPREHENSION DE L'INFORMATION GENETIQUE DANS LA DYSTROPHIE MYOTONIQUE DE STEINERT : A PROPOS DE 35 PATIENTS

UNDERSTANDING OF GENETIC INFORMATION IN STEINERT MYOTONIC DYSTROPHY : ABOUT 35 PATIENTS

E SCHAERER (1), A JACQUETTE (1), M GARGIULO (2), CC MICHON (3), B GALLAIS (4), T STOJKOVIC (4), A BEHIN (4), S WHALEN (5), A MALLET (1), A HERSON (1), P LAFORET (4), B EYMARD (6), D HERON (1)
1. Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
2. Département de Génétique et Cytogénétique, Laboratoire de Psychologie Clinique et Psychopathologie (EA 4056), Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Université Paris Descartes/Sorbonne Paris Cité/Institut de Psychologie, PARIS, France
3. Département de Génétique et Cytogénétique, Institut de Myologie / Centre de référence Paris Est, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Institut de myologie / Centre de référence Paris Est, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
6. Institut de myologie / Centre de référence Paris Est, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, PARIS, France

Introduction et objectifs
Dans la dystrophie myotonique de Steinert (DM1), l'information génétique délivrée au patient étant particulièrement complexe (anticipation, variabilité d'expression, transmission maternelle des formes congénitales…), nous avons souhaité évaluer ce qui est retenu et compris de cette information par les patients et apprécier quels facteurs pouvaient favoriser une meilleure compréhension de cette information, afin d'améliorer nos pratiques de conseil génétique dans cette affection.

Méthodes
35 patients atteints de DM1 (20 femmes et 15 hommes âgés en moyenne de 44 ± 13 ans dont 43% n'avaient pas d'enfants) ont été interrogés lors de leur passage en Hôpital de jour à l'Institut de Myologie de la Pitié-Salpêtrière sur une période de 4 mois consécutifs. Le questionnaire dirigé a été suivi systématiquement d'une phase d'information des patients.

Principaux résultats
Les principales caractéristiques concernant la transmission de la maladie de Steinert sont erronées ou inconnues pour près de la moitié des patients interrogés, même si 66% déclarent avoir été informés sur le mode d'hérédité de la maladie : (i) 45% ne connaissent pas le risque de transmission à leur descendance et 59 % ne connaissent pas le risque spécifique de transmission de la forme congénitale, (ii) 38% ignorent l'existence du DPN et 68 % celle du DPI, (iii) 47 % ne savent pas que le risque de présenter la maladie est indépendant du sexe et (iiii) 35 % ne savent pas que le risque de transmettre la maladie est indépendant du sexe.
On note enfin que 31 % des patients ont choisi de ne pas avoir d'enfant pour ne pas transmettre la maladie.

Les éléments qui semblent influencer la connaissance de la maladie sont : (i) le niveau d'étude, (ii) la forme clinique de la maladie : les connaissances semblent meilleures parmi les patients qui présentent une forme adulte de la maladie par rapport à ceux qui présentent une forme infantile, mais cet élément n'est pas indépendant du niveau d'étude, (iii) le sexe : meilleure connaissance parmi les femmes, (iiii) l'âge : les patients les plus jeunes (moins de 45 ans) semblent mieux informés que les plus âgés et (iiiii) l'existence d'une consultation de génétique dédiée, dont seulement 46% des patients ont bénéficié.

Conclusion

Cette étude révèle, sur un petit échantillon, la méconnaissance globale des caractéristiques génétiques de la DM1 par les patients eux-mêmes, ce qui a des conséquences sur le diagnostic précoce, la prise en charge et les choix procréatifs. Ces résultats permettent de souligner la nécessité d'une consultation de génétique dédiée, dissociée de la consultation d'annonce ou de suivi, après le diagnostic. Dans cette pathologie, où peuvent être associés des troubles cognitifs, le discours doit être adapté à la capacité de compréhension de chaque patient.

Mots clés : dystrophie myotonique de steinert, information génétique

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P549 - MALFORMATIONS UROGENITALES AU CAMEROUN, BILAN APRES 2 ANS D'UNE PRISE EN CHARGE PAR UNE EQUIPE FRANCE-SUISSE-CAMEROUN. UROGENITAL MALFORMATIONS IN CAMEROUN: STATUS AFTER 2 YEARS OF TREATMENTS BY A FRENCH,SWISS,CAMEROON TEAM.

HYPOSPADIAS, DSD,CAH

WY JOKO (1), J BIRRAUX (2), SP DAHOUN (3), AS DOH (4), C LECOULTRE (5), MFM MALISSE (2), HN MEMPOUILA MEKE (6), B MOIFO (7), Y MOREL (8), FF MOUAFO TAMBO (9), PY MURE (10), C NGONGANG (6), B PATUREL (11), Z SANDO (12), V TARDY (13), A WONKAM (6)

1. Service de génétique médicale, Hôpital Gynéco-Obstétrique et Pédiatrique de Yaoundé (HGOPY) BP 4362 Yaoundé. Département de morphologie - Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales-Université de Yaoundé I. Cameroun, Yaoundé, Cameroun
2. Service de Chirurgie Pédiatrique, Hôpitaux Universitaires de Genève, Rue Willy Donzé 6,1211 Genève 14., Genève, Suisse
3. Service de Medecine Génétique, Hôpitaux Universitaires de Genève, Rue Michel Servet 1,1211 Genève 14, Genève, Suisse
4. Service de Gynécologie, Hôpital Gynéco-Obstétrique et Pédiatrique de Yaoundé (HGOPY) BP 4362 Yaoundé. Département de morphologie - Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales-Université de Yaoundé I. Cameroun, Yaoundé, Cameroun
5. Children Action, Childrenaction.org, Genève, Suisse
6. Service de Génétique Médicale, Hôpital Gynéco-Obstétrique et Pédiatrique de Yaoundé (HGOPY) BP 4362 Yaoundé. Département de morphologie - Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales-Université de Yaoundé I. Cameroun, Yaoundé, Cameroun
7. Service de Radiologie, Hôpital Gynéco-Obstétrique et Pédiatrique de Yaoundé (HGOPY) BP 4362 Yaoundé. Département de morphologie - Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales-Université de Yaoundé I. Cameroun, Yaoundé, Cameroun
8. Endocrinologie moléculaire et maladies rares, Université Claude Bernard Lyon 1. Hôpital Femme Mère Enfant (HFME) 59, boulevard Pinel, 69677 Bron Cedex, Bron, France
9. Service de Chirurgie Pédiatrique, Hôpital Gynéco-Obstétrique et Pédiatrique de Yaoundé (HGOPY) BP 4362 Yaoundé. Département de chirurgie et spécialités - Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales-Université de Yaoundé I. Cameroun, Yaoundé, Cameroun
10. Service de Chirurgie Pédiatrique, Université Claude Bernard Lyon 1. Hôpital Femme Mère Enfant (HFME) 59, boulevard Pinel, 69677 Bron Cedex., Bron, France
11. Service de Chirurugie Pédiatrique, Université Claude Bernard Lyon 1. Hôpital Femme Mère Enfant (HFME) 59, boulevard Pinel, 69677 Bron Cedex., Bron, France
12. Service d'Anatomo-Pathologie, Hôpital Gynéco-Obstétrique et Pédiatrique de Yaoundé (HGOPY) BP 4362 Yaoundé. Département de morphologie - Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales-Université de Yaoundé I. Cameroun, Yaoundé, Cameroun
13. Service d'Endocrinologie moléculaire et maladies rares, Université Claude Bernard Lyon 1. Hôpital Femme Mère Enfant (HFME) 59, boulevard Pinel, 69677 Bron Cedex, Bron, France

Le service de Médecine Génétique existe au Cameroun depuis 2007. Les consultations ont mis en évidence un grand nombre de malformations urogénitales avec ou sans DSD (Disorders of Sex Development). La prise en charge des patients atteints a mis en exergue le manque de ressources locales tant techniques qu'humaines. Avec l'aide de la fondation suisse Children Action, a été initié à l'HOGPY, un programme spécifique à l'échelle du pays en collaboration avec l'hôpital Femme Mère Enfant de Bron(Lyon), les HUG et le Ministère Camerounais de la santé public.

OBJECTIFS:

1-Identifier les patients présentant des DSD au sein de la cohorte.

2-Diagnostiquer une éventuelle maladie génétique.

3-Discuter des options thérapeutiques légales, sociales et culturelles en respectant l'avis des comités d'éthique clinique de Children Action et Camerounais mis en place pour ce projet.

4-Proposer une prise en charge médicale et chirurgicale et un conseil génétique.

5-Transmettre les connaissances à l'équipe locale.

METHODES:
1- À HGOPY:
a. Information de la population Camerounaise par voie de presse (mission inaugurale en nov.2009 puis missions 2xan).
b. Consultations multidisciplinaires par équipes camerounaises et européennes (chirurgiens pédiatres, généticiens, endocrinologues, gynécologues, radiologues, pathologues) permettant la caractérisation du phénotype.
c. Suivi des patients, prise en charge médicale et chirurgicale.
d. Extraction d'ADN. Mise en route du laboratoire diagnostic génétique.
2- En Europe:
a. Profils hormonaux. Analyses de génétique chromosomique et moléculaire.
b. Validation des diagnostics et des projets de soins par équipe d'experts avant chaque mission.
RESULTATS:
Depuis, en 4 missions de 10 jours, 155 patients ont été enregistré dont:
1- Hypospadias
27 proximaux
28 antérieurs
2-Hyperplasies surrénales congénitales CAH
9 cas (déficit en 21 hydroxylase et 11beta hydroxylase)
3- 46,XX DSD
9 cas (dont 4 enfants SRY négatif et SOX9 normal, séquençage total en cours)
4- 46,XY DSD
5 cas défaut testostérone ou organes cibles (diagnostics en cours)
5- Autres pathologies
77 dont 6 cas d'exstrophie vésicale

48 enfants ont été opérés de différentes pathologies sans complication post opératoire. Une génitoplastie a été réalisée pour 3 enfants atteintes de CAH. Le diagnostic exact nécessaire pour la prise en charge médicale et chirurgicale permet le conseil génétique et une quinzaine d'enfants, à ce jour, ont pu être complètement explorés.

CONCLUSIONS:
Ce programme a soulevé le besoin de mettre en place, en Afrique subsaharienne, des laboratoires de diagnostic génétique. La collaboration internationale permet d'apporter un plateau technique performant pour faire bénéficier les enfants atteints de DSD d'une prise en charge adaptée et de faire un état des lieux des pathologies urogénitales.
La formation d'équipes locales (complétée lors des missions à venir) et l'accès aux diagnostics sur place restent la priorité.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P550 - INTERET DU DIAGNOSTIC PRESYMPTOMATIQUE DANS LE CANCER MEDULLAIRE DE LA THYROÏDE
INTEREST OF PRESYMPTOMATIC DIAGNOSIS IN MEDULLARY THYROID CANCER

H DEHBI (1), A Moutaouakil (2), S Nadifi (1)

1. Laboratoire de Génétique et Pathologie Moléculaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca, CASABLANCA, Maroc

2. Service d'endocrinologie, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc

Le cancer médullaire de la thyroïde (CMT) est un cancer rare qui se développe aux dépens des cellules C parafolliculaires thyroïdiennes. Selon le registre des cancers du grand Casablanca, le CMT représente 5,4% des cancers de la thyroïde, il peut se révéler par un nodule thyroïdien avec euthyroïdie ou un goitre multinodulaire. La sécrétion de la calcitonine (CT) est le marqueur biologique tumoral de diagnostic et de suivi. Le CMT est familiale dans près de 30 % des cas s'intégrant dans la néoplasie endocrinienne multiple de type 2, affection héréditaire monogénique rattachée à des mutations germinales du gène RET, marqueur génétique du CMT.
Nous rapportons dans ce travail le cas d'une famille marocaine ayant un CMT familial. Le premier cas a été adressé à notre laboratoire pour étude moléculaire du gène RET. La variation allélique hétérozygote c.1597G>T a été retrouvée par séquençage chez le propositus. L'enquête familiale avec dosage de la CT chez la fratrie a révélée un taux légèrement élevé chez une sœur, et un taux normal chez les autres membres de la fratrie. Malgré ce taux normal de CT, une étude moléculaire a été réalisée, et a objectivée la présence de la même mutation chez trois sœurs. Une chirurgie adaptée a été proposée aux 3 patientes, chez qui le CMT a été retrouvé à un stade anatomo-clinique très précoce, garantissant ainsi une guérison d'un cancer souvent de mauvais pronostic.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P551 - DELAYED DIAGNOSIS OF FANCONI ANAEMIA AT ADVANCED AGE: A CASE REPORT WITH CLONAL CYTOGENETIC ABERRATIONS IN BONE MARROW. DIAGNOSTIC TARDIF DE L'ANEMIE DE FANCONI: A PROPOS D'UN CAS PRESENTANT DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES CLONALES.

L TORJMANE (1), A LAKHAL (1), F TALMOUDI (2), O KILANI (2), S LADAB (1), N ABDELJELIL (1), S ABDELHAK (3), T BEN OTHMAN (1), A AMOURI (4)

1. Unité de Greffe, Centre National de Greffe de Moelle Osseuse, Tunis, Tunisie
2. Laboratoire de Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
3. Molecular Investigation Of Genetic Orphan Diseases Research Unit (MIGOD) UR 26/04, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
4. Laboratoire de Cytogénétique et Molecular Investigation Of Genetic Orphan Diseases Research Unit (MIGOD) UR 26/04, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie

Fanconi anaemia is a rare autosomal and X-chromosomal recessive disorder of DNA repair defined by the clinical triad of congenital malformations, progressive bone marrow failure and cancer predisposition with a high propensity for developing malignancies at an early age, predominantly acute myeloid leukaemia (AML) and squamous cell carcinoma. Although the majority of FA patients have low birth weight and short stature, the extent of other congenital abnormalities varies considerably even among affected family members. If congenital malformations are absent, FA is usually diagnosed during childhood or adolescence on the basis of haematological abnormalities: macrocytosis, thrombocytopenia, neutropenia, myelodysplastic syndrome (MDS) or acute myeloid leukaemia.

Here, we report on a patient with FA diagnosed only at the age of 33 years. He has a history of infant death in siblings, a celiac disease and has been gluten-free diet, ecthyma, warts and seborrheic keratosis. During a febrile episode, leucopenia was diagnosed. Bone marrow (BM) aspirate and biopsy were performed to rule out myelodysplastic syndrome (MDS) and FA diagnosic work-up was initiated. BM biopsy revealed bone marrow failure without dysplastic features. FA testing revealed DNA interstrand cross-linker hypersensitivity as the characteristic hallmark of FA. Marrow karyotype showed triplication of chromosome 1 and other abnormalities affecting chromosomes 3, 15 and 16.

This case demonstrates that, in case of growth retardation and clonal cytogenetic abnormalities irrespective of the patient's age and features, FA should be ruled out especially before severe complications.

POSTER
6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P552 - EVOLUTION SUR 12 ANS DES INDICATIONS A REALISER UN DIAGNOSTIC PRENATAL APRES INTRODUCTION DU DEPISTAGE COMBINE DU 1ER TRIMESTRE A GENEVE

TEST, PRENATAL, 1ER TRIM

SP DAHOUN (1), J HEDIGER BONFANTINI (2), F BENA (3), P EXTERMANN (4), R ROBYR (5), E ANTONELLI (6), OP IRION (7), MH BILLIEUX (7), I KERN (2)
1. Service de Medecine Génétique, Hôpitaux Universitaires de Genève, Rue Michel Servet 1,1211 Genève 14, Genève, Suisse
2. Service de Médecine Génétique et de laboratoire, Hôpitaux Universitaires de Genève, Genève, Suisse
3. Service de Médecine Génétique, Hôpitaux Universitaires de Genève, Rue Michel Servet 1,1211 Genève 14, Genève, Suisse
4. Dianecho, 116 rue de Carouge, Genève, Suisse
5. Echofemmes, Hôpital de la Tour, Meyrin, Suisse
6. Gynécologie Obstétrique, 12 ch. Beau- Soleil, Genève, Suisse
7. Département Gynécologie & Obstétrique, Hôpitaux Universitaires de Genève, Genève, Suisse

Objectifs:
Analyser l'évolution des indications du diagnostic prénatal entre 1999 et 2010. Déterminer l'impact de l'introduction du test combiné du 1er trimestre, notamment pour les diagnostics réalisés en raison de l'âge maternel et ou de l'inquiétude parentale.

Méthodes:
Etude rétrospective et descriptive des 12645 cas, tenant compte de l'indication du test, de l'âge maternel et des données du caryotype.

Résultats:
1-De 1999 à 2010, le nombre annuel de caryotypes prénatals réalisés au laboratoire de génétique chromosomique des HUG a diminué de 1504 à 698 alors que le taux de naissances du canton de Genève restait stable à 4721±120/an.
2-En 1999, le pourcentage de caryotypes anormaux était de 1,9%, contre 6,9% en 2010.
3-Durant la période 1999-2001, 60.6% des échantillons étaient adressés pour âge maternel (≥35ans), 19.4% pour dépistage indiquant un risque élevé d'aneuploïdie (test combiné du 1er trimestre ou test biochimique du second trimestre avec seuil de 1/380 à terme), 3.05% pour anomalies morphologiques à l'échographie, et 13.7% pour inquiétude parentale. Durant la période 2008-2010, les pourcentages respectifs étaient de 48.2%, 27.9%, 9.1% et 6.9%.
4-L'âge maternel médian était de 34.6 ans dans l'intervalle 1999-2001, respectivement 37.1, 30.4, 31.7 et 31.0 ans. Dans l'intervalle 2008-2010, l'âge maternel médian était de 36.4 ans, respectivement 38.5, 35.3, 33.1 et 32.2 ans
5-Dans l'intervalle 2008-2010, la proportion de dépistages du 1er trimestre vs 2ème trimestre menant à un diagnostic prénatal était de 93 vs 7%.

Conclusions:
Le système de santé suisse prévoit un remboursement du diagnostic prénatal dès l'âge de 35 ans ou chez les femmes présentant un risque d'aneuploïdie équivalent, à savoir un seuil de 1/380 à terme.
La confiance envers la fiabilité du dépistage combiné du 1er trimestre par les gynécologues et les patientes a conduit à une réduction de 50% des gestes invasifs en 12 ans avec un taux de dépistage des anomalies chromosomiques multiplié par 3. Un diagnostic invasif a concerné 14% des naissances du canton malgré la diminution des indications motivées par l'âge maternel ou l'inquiétude parentale alors que l'âge médian des mères a augmenté dans l'ensemble de nos populations.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P553 - EVOLUTION DE LA DYSMORPHIE FACIALE DANS LE SYNDROME DE COHEN : QUELQUES INDICES POUR UN DIAGNOSTIC PLUS PRECOCE

S El Chehadeh-Djebbar (1), E Blair (2), M Holder (3), A Moncla (4), AM Frances (5), M Rio (6), FG Debray (7), P Rump (8), A Masurel-Paulet (1), N Gigot (9), P Callier (10), L Duplomb (11), B Aral (9), F Huet (1), C Thauvin-Robinet (12), L Faivre (12)

1. Centre de génétique, Hôpital d'Enfants, CHU de Dijon, Dijon, France
2. Department of clinical genetics, Churchill Hospital, Headington, Oxford, Royaume-Uni
3. Service de Génétique, Hôpital Jeanne de Flandres, Lille, France
4. Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de La Timone, Marseille, France
5. Service de Génétique, Hôpital Font-Pré, Toulon, France
6. Département de Génétique, Hôpital Necker - Enfants Malades, Paris, France
7. Service de Génétique Humaine, CHU Sart Tilman, Liège, Belgique
8. Department of Genetics, University Medical Center, Groningen, Pays-bas
9. Laboratoire de génétique moléculaire, Plateau technique de biologie, CHU de Dijon, Dijon, France
10. Laboratoire de cytogénétique, Plateau technique de biologie, CHU de Dijon, Dijon, France
11. Equipe Génétique des Anomalies du développement, Université de Bourgogne, Dijon, France
12. Centre de génétique, Hôpital d'Enfants CHU de Dijon, Dijon, France

Introduction: Le syndrome de Cohen (SC) est une maladie rare transmise sur le mode autosomique récessif, secondaire à des mutations et/ou de grands réarrangements intragéniques du gène VPS13B. Il est caractérisé par un retard de développement, une hypotonie, une dysmorphie faciale caractéristique, une microcéphalie post-natale, une obésité tronculaire, des extrémités effilées, une hyperlaxité ligamentaire, une myopie, une dystrophie chorio-rétinienne et une neutropénie intermittente, qui sont les deux signes majeurs de ce syndrome. La dysmorphie faciale typique comprend le classique « sourire grimaçant » et tend à s'accentuer avec l'âge. Le diagnostic est généralement porté à l'adolescence, quand la dystrophie chorio-rétinienne est mise en évidence, excluant ainsi toute possibilité de conseil génétique avisé et de choix reproductifs. Le but de ce travail est d'analyser l'évolution de la dysmorphie faciale avec l'âge dans le but de déterminer des indices permettant un diagnostic plus précoce.
Méthodes et résultats : Les photographies de 18 patients porteurs d'un syndrome de Cohen prouvé sur le plan moléculaire nous ont été transmises par les parents, depuis la naissance jusqu'à l'âge scolaire, et jusqu'à l'âge adulte lorsque cela était possible. Après avoir comparé leur phénotype facial, nous confirmons que la dysmorphie faciale typique du SC n'est en général pas reconnaissable avant 3 ans. Néanmoins, les nourrissons avec SC partagent déjà certaines caractéristiques faciales communes qui tendent à évoluer avec le temps. Ces signes incluent un cou court, un visage carré avec une micrognathie et des joues pleines, un aspect hypotonique du visage, un fréquent strabisme, de longues oreilles avec une partie supérieure du pavillon éversée et/ou un lobe proéminent, un philtrum légèrement fin, une petite bouche avec des coins tombants, une lèvre inférieure épaisse avec un sillon labio-mentonnier marqué. De plus, nous décrivons deux types de formes d'yeux caractéristiques : le premier comprend un épicanthus ainsi que des fentes palpébrales fortement arquées et orientées en bas et en dehors avec un fréquent ptôsis, le second comprend des fentes palpébrales allongées, en forme de vague, avec des cils longs et épais. Nous observons également des patients plus âgés présentant une dysmorphie faciale atypique, rendant le diagnostic difficile à évoquer sur un examen clinique isolé.
Conclusion : Ces observations renforcent l'importance de la numération formule sanguine et des examens ophtalmologiques, en particulier l'électrorétinogramme, dans le bilan des enfants en âge pré-scolaire présentant un retard de développement, une hypotonie persistante et les caractéristiques faciales que nous décrivons, afin de permettre un diagnostic plus précoce de SC. L'absence de dysmorphie faciale typique à l'âge adulte ne devrait pas faire exclure le diagnostic de SC.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P554 - MUTATION P.ARG156CYS DU GENE TGFB1 : SYNDROME DE CAMURATI-ENGELMANN OU DE RIBBING ?

C Collet (1), M Lenne (1), JL Laplanche (1), MC de Vernejoul (2)

1. Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France
2. Service de Rhumatologie, Hôpital Lariboisière, Paris, France

Le syndrome de Camurati-Engelmann (SCE) est une dysplasie diaphysaire progressive de transmission autosomique dominante due à des mutations du gène TGFB1 (transforming growth factor-beta1). Il se caractérise par une hyperostose des os longs et du crâne qui se traduit cliniquement par des douleurs osseuses, une faiblesse musculaire, une démarche dandinante, une fatigabilité accrue et des céphalées. Les mutations faux-sens, sont principalement situées dans l'exon 4 (90%). Cependant de rares mutations ont été décrites dans l'exon 1 et dans l'exon 2. Le syndrome de Ribbing (SR) se définit comme une forme cliniquement modérée de SCE sans atteinte du crâne et actuellement, aucune étiologie génétique n'est connue pour ce syndrome. Nous rapportons un cas familial atypique de SCE, confirmé par la mise en évidence de la mutation p.Arg156Cys (c.466C>T) dans l'exon 2 du gène TGFB1. En effet, le diagnostic du cas index, une femme de 40 ans d'origine colombienne, a été évoqué en présence d'une hyperostose des diaphyses des tibias associées à des douleurs régressant sous corticoïdes. Des lésions diaphysaires bilatérales et symétriques similaires ont été retrouvées radiologiquement chez deux autres sœurs mais elles restent asymptomatiques. Par ailleurs, elles sont porteuses de cette même mutation. Il est important de noter qu'aucune des trois sœurs ne présentent une hyperostose de la base du crâne. Curieusement, cette mutation a été rapportée dans une famille d'origine marocaine avec des lésions diaphysaires des os longs sans anomalie de la base du crâne. Cette mutation semble donc être associée à une forme moins grave, évocatrice d'un SR. Le syndrome de Ribbing est certainement sous-estimé et représente peut-être une entité à part entière. En conséquence, l'analyse moléculaire de TGFB1 pourrait être contributive devant une hyperoostose isolée des os longs dans un contexte familial.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P555 - CORRELATION GENOTYPE-PHENOTYPE DU SYNDROME DE USHER

C Sain-Oulhen (1), C Bonnet (2), G Challe (3), M Bertina (2), L Smagghe (2), L Verone (2), M Blanchard (4), M Avila (5), D Bonneau (6), S Briault (7), A David (8), H Dollfus (9), S Gherbi (10), B Isidor (8), L Jonard (11), F Lemonier (12), M Louha (11), N Loundon (13), M Momtchilova (14), L Olivier-Faivre (5), I Perthus (15), C Thauvin (5), A Toutain (16), S Wiener Vacher (17), X Zanlonghi (18), C Petit (2), F Denoyelle (19), S Marlin (10)

1. Service ORL et chirurgie cervico-faciale, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Unité INSERM UMRS 587, Laboratoire de Biochimie, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
2. Unité INSERM UMRS 587, Laboratoire de Biochimie, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
3. Service d'ophtalmologie, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
4. Unité INSERM UMRS 587, Laboratoire de Biochimie, Hôpital Armand Trousseau, Service d'ORL pédiatrique, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
5. Service de génétique médicale, CHU Dijon, Dijon, France
6. Service de génétique médicale, CHU d'Angers, Angers, France
7. Structure interne de génétique, CHG d'Orléans, Orléans, France
8. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
9. Service de génétique médicale, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
10. Centre de référence des surdités génétiques, Hôpital Armand Trousseau, Service de génétique médicale, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
11. Unité INSERM UMRS 587, Laboratoire de Biochimie, Hôpital Armand Trousseau, Centre de référence des surdités génétiques, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
12. Cabinet d'ophtalmologie, Cabinet d'ophtalmologie, Montaigu, France
13. Service d'ORL pédiatrique Hôpital Armand Trousseau, Centre de référence des surdités génétiques, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
14. Service d'ophtalmologie pédiatrique, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
15. Service de génétique médicale, CHU Estaing, Clermont Ferrand, France
16. Service de génétique médicale, Hôpital Bretonneau, CHRU de Tours, Tours, France
17. Service d'ORL pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
18. Centre basse vision, Clinique Sourdille, Nantes, France
19. Centre de référence des surdités génétiques, Hôpital Armand Trousseau, Service d'ORL pédiatrique, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France

Le syndrome de Usher qui associe une surdité neurosensorielle à une rétinopathie pigmentaire, est la cause la plus fréquente de surdité-cécité héréditaire. Il est décrit 3 types de syndrome de Usher en fonction d'une part, du degré et de l'évolutivité de la surdité et d'autre part, de l'existence ou non de signes vestibulaires.

De transmission autosomique récessive, le syndrome de Usher est génétiquement hétérogène. Actuellement, 9 gènes responsables d'un syndrome de Usher ont été identifiés et un 10è gène est suspecté d'un rôle modulateur.

Le manque de corrélations phénotype/génotype connues participe aux difficultés diagnostiques du syndrome de Usher.

Notre but est d'établir un arbre décisionnel permettant l'orientation du diagnostic moléculaire.

Une fiche de recueil clinique a été créée et recense les données d'état civil, les éléments concernant la surdité (audiogrammes), les problèmes visuels (âge d'apparition des troubles, champ visuel, œdème maculaire cystoide, caratacte, ERG), les troubles d'équilibre (VNG). Un séquençage systématique de tous les exons des gènes connus pour le Usher a été réalisé pour tous les patients.

Notre cohorte comprend 61 patients Usher de type I, 46 Patients Usher de type II et 1 patient de type III. 2 patients de type I ont des fonctions vestibulaires en partie préservée, et 25 % des patients de type II ont une surdité évolutive. Des mutations ont été objectivées pour 97% des patients (70/72 patients). Aucune mutation n'a été mise en évidence dans le gène de la clarine (type III).

Les données épidémiologiques des groupes et les mutations retrouvées sont comparables à ceux de la littérature. Nos résultats soulignent la difficulté de classement clinique des patients en type III, et ce d'autant que cette étude met en évidence l'évolutivité des surdités chez les types II. La technique de séquençage systématique est très performante pour la recherche des mutations

des patients atteints. Aucune corrélation génotype-phénotype n'a pu être mise en évidence. L'impossibilité d'objectiver une mutation pour certains patients et la notion de disparité phénotypique intra-familiale au sein de notre cohorte, suggère l'existence d'autres gènes responsables de Usher.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P556 - CONTINUUM CLINIQUE ENTRE LES SYNDROMES DE BARDET-BIEDL ET D'ALSTRÖM CONFIRME PAR LE SEQUENÇAGE SYSTEMATIQUE DES GENES DE CILIOPATHIES.

S HELLE (1), K ALIFERIS (2), G GYAPAY (3), J MULLER (4), E SCHAEFER (1), S DUCHATELET (5), C STOETZEL (1), JL MANDEL (4), H DOLLFUS (1)

1. Laboratoire de Physiopathologie des Syndromes Rares Héréditaires, équipe Avenir INSERM, Faculté de Médecine, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Centre de Référence pour les Affections Rares en Génétique Ophtalmologique, CARGO, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Centre National de Séquençage, CNS, Institut de Génomique, Genoscope, Evry, France
4. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, IGBMC, Illkirch, France

Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS) appartient au groupe des ciliopathies. Il se transmet sur le mode autosomique récessif et, à ce jour, 16 gènes (BBS1 à BBS16) sont identifiés. Il se caractérise cliniquement par l'association d'une rétinopathie pigmentaire, d'une obésité, d'une polydactylie post-axiale, d'une atteinte rénale, d'un hypogonadisme et de troubles des apprentissages. La sévérité et l'âge de début de ces signes est variable selon les individus. Le diagnostic de syndrome de Bardet-Biedl peut être difficile à établir, surtout dans la petite enfance, du fait du continuum clinique qui existe entre ce syndrome et les autres ciliopathies, et notamment avec le syndrome d'Alström. Le syndrome d'Alström se définit par l'association d'une rétinopathie pigmentaire, d'une obésité, d'une surdité, d'un diabète de type 2, d'une cardiomyopathie dilatée et d'une insuffisance rénale et hépatique. Un seul gène est impliqué dans ce syndrome : le gène ALMS1.

En collaboration avec le Centre National de Séquençage (CNS) d'Evry, France, nous avons séquencé les exons et introns flanquants de 27 gènes connus pour être impliqués dans les ciliopathies chez 96 patients de la cohorte BBS du laboratoire. Des mutations dans les gènes BBS connus ont été identifiées chez 44 patients (42%). De façon inattendue, des mutations ont été trouvées à l'état homozygote dans le gène ALMS1 chez 4 patients (4,2%) faisant poser chez eux le diagnostic final de syndrome d'Alström.

Cliniquement, ces quatre patients présentent une rétinopathie pigmentaire sévère avec un nystagmus congénital ainsi qu'une obésité. Sur les 4 mutations identifiées à l'état homozygote, une seule a déjà été décrite (c.11310delAGAG ; p.R3770fsX) et 3 sont des nouvelles mutations (c.2293C>T ; p.Q765X, c.6823insA ; p.R2275fsX, c.9046delA ; p.N3016fsX).

Cette observation confirme le chevauchement phénotypique déjà rapporté entre les syndromes de Bardet-Biedl et d'Alström en particulier dans la petite enfance. En raison de ce continuum clinique et de l'hétérogénéité moléculaire du syndrome de Bardet-Biedl, le séquençage de l'ensemble des gènes responsables de ciliopathies semble être une approche diagnostique prometteuse. Le diagnostic moléculaire est essentiel pour la prise en charge et le conseil génétique pour le patient et sa famille.

POSTER
6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P558 - QUEL CONSEIL GENETIQUE POUR LES COUPLES PRESENTANT DES NON-DISJONCTIONS A REPETITIONS ?
WHICH GENETIC COUNSELLING FOR COUPLE WITH RECURRENT NON-DISJUNCTION ?

E Haquet (1), F Pellestor (2), G Lefort (2), J Puechberty (1), P Sarda (1)
1. Département de Génétique Médicale, Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

Nous avons récemment reçu, en consultation de génétique médicale, deux familles ayant chacun présenté trois grossesses avec des anomalies de nombre des chromosomes.
Le premier couple, Monsieur et Madame E, ont eu deux interruptions médicales de grossesse (IMG), pour trisomie 18 et pour trisomie 21, et une fausse-couche d'un foetus avec une monosomie X. Madame E a également fait deux fausses couches du premier trimestre et a un garçon en bonne santé. Elle mène actuellement une grossesse dont l'issue semble favorable (FISH interphasique normale).
Le second couple, Monsieur et Madame P, ont un enfant atteint de T21 et ils ont fait deux IMG pour T21 et pentasomie X. Madame P a quatre enfants de deux unions précédentes. Monsieur P n'a pas d'enfant de son côté.
Ces couples ont été reçus à plusieurs reprises en consultation de génétique médicale. L'information donnée et le conseil génétique pour une nouvelle grossesse ont évolué dans le temps avec l'histoire obstétricale. Différents examens génétiques ont été proposés et discutés avec les couples. Cela a permis pour le couple P de suspecter une origine paternelle des non-disjonctions (analyse FISH sur spermatozoïdes montrant des disomies des chromosomes 8, 13, 16, 18, 21, X et Y).
Les aneuploidies sont majoritairement causées par des non-disjonctions méiotiques. Pour la trisomie 21, il a été montré que la non-disjonction des chromosomes 21 est favorisée par l'absence de recombinaison entre les deux chromosomes 21 homologues ou par une localisation centromérique ou télomérique du site de la recombinaison. Dans les cas de non-disjonction à répétitions, les gènes codants les protéines impliquées dans la recombinaison, dans le maintien, au cours de la méiose, des centromères et des chromatides soeurs (les cohésines) sont de bons candidats mais ne peuvent pas explorés en routine.
Même si les cas de non-disjonctions à répétitions restent rares, ils constituent des situations très délicates pour le conseil génétique car un phénomène considéré habituellement comme accidentel se reproduit chez un couple sans que l'on puisse en connaître avec précision la cause génétique et en déterminer le risque de récidive.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P559 - LA MALADIE DE SANDHOFF EN FRANCE : CARACTERISATION DES ANOMALIES MOLECULAIRES CHEZ DOUZE PATIENTS

P Gaignard (1), J Fagart (2), JP Puech (3), E Azouguene (3), J Dussau (3), C Caillaud (4)

1. Laboratoire de Biochimie, CHU Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
2. INSERM UMR693, Faculté de Médecine Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France
3. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, Groupe Hospitalier Cochin-Saint-Vincent-de Paul, Paris, France
4. Faculté de médecine Paris Descartes, Université Paris Descartes, Paris, France

La maladie de Sandhoff (OMIM 268800) est une affection de surcharge lysosomale due à des mutations du gène HEXB codant la chaîne b des hexosaminidases. Elle s'accompagne d'un déficit en hexosaminidases A (ab) et B (bb), enzymes participant au catabolisme des gangliosides cérébraux. Les patients souffrants de cette maladie présentent donc une atteinte principalement neurologique (retard psychomoteur progressif, convulsions...), avec un âge de début variable selon la sévérité des mutations et le niveau d'activité enzymatique résiduelle.

Douze patients français présentant un déficit en hexosaminidases ont été analysés par séquençage du gène HEXB. Une grande délétion de 16 kb (région 5' du gène) ayant été décrite comme fréquente dans la littérature, elle a été recherchée en priorité chez ces patients. Cette mutation est également la plus commune dans notre série avec 9/24 allèles (37,5%). Neuf mutations nouvelles ont été caractérisées chez les patients testés, parmi lesquelles trois sont associées à la délétion de 16 kb dans des formes infantiles sans activité résiduelle. L'une est une mutation d'épissage (c.558+5G>A) située dans l'intron 4, entraînant un saut d'exon et l'apparition d'un codon stop prématuré, comme ceci a été démontré par analyse de l'ADNc. Les deux autres mutations c.552T>G (p.Y184X) et c.115delG (p.V39WfsX25) aboutissent elles aussi à des protéines tronquées inactives.

Les autres mutations ont été analysées par modélisation moléculaire. Compte tenu de la structure cristallographique de la chaîne b, les délétions c.1058_1060del (p.353delG) et c.800_817del (p.267_272delTPNDVR), ainsi que la duplication c.1485_1487dup (p.T496dup) désorganisent totalement la triade catalytique Glu355-His294-Asp240 située dans le domaine C-terminal. Ces allèles sont d'ailleurs associés à des formes sévères. La mutation faux-sens p.T150P désorganise quant à elle un feuillet b du domaine N-terminal, domaine nécessaire à l'activité, mais dont le rôle est encore mal défini. Chez un patient, cette mutation est associée à la mutation p.Y266D déjà connue, mais peu caractérisée. Selon notre analyse structurale, la mutation p.Y266D perturbe fortement la fixation du substrat. Ces deux variants c.793T>G (p.Y266D) et c.448A>C (p.T150P) étant présents dans une forme infantile, ils peuvent être considérés comme sévèrement délétères. La mutation faux-sens c.171G>C (p.W57C) altère l'ancrage entre les domaines N- et C-terminaux. Comme elle est présente en association avec la délétion c.176delT (p.L59RfsX5, mutation non-sens nouvelle) chez un patient avec une forme juvénile, il est probable que la fonctionnalité de la chaîne bW57C soit diminuée sans être totalement abolie, expliquant l'activité résiduelle observée. Enfin, une forme tardive avec un génotype associant la délétion de 16 kb et la mutation p.Y456S (c.1367A>C) déjà décrite nous a permis d'illustrer le rôle de la Tyr456 dans la dimérisation des chaînes a et b.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P560 - VARIATIONS DE L'ETAT PSYCHOLOGIQUE DE PATIENTS PORTEURS D'UNE MUTATION SDH INCLUS DANS UN PROTOCOLE NATIONAL DE DEPISTAGE DES TUMEURS (PGL-EVA) : PREMIERS RESULTATS.

K LAHLOU-LAFORET (1), A CAUMONT-PRIM (2), S CONSOLI (3), V ROHMER (4), AP GIMENEZ-ROQUEPLO (5)

1. Service de Psychologie Clinique et Psychiatrie de Liaison, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France
2. Unité de Recherche Clinique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
3. Service de Psychologie Clinique et Psychiatrie de Liaison, Hôpital Européen Georges Pompidou- Faculté de Médecine Paris-Descartes, PARIS, France
4. Département d'endocrinologie, diabétologie et nutrition. Centre de référence des maladies rares de la réceptivité hormonale, CHU d'Angers, ANGERS, France
5. Service de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou- Faculté de Médecine Paris-Descartes, PARIS, France

Introduction

Les paragangliomes et phéochromocytomes sont familiaux dans environ 25 % des cas. Les formes héréditaires sont plus précoces et présentent un risque de récurrence et de malignité. Le diagnostic génétique chez les cas index et les apparentés permet un dépistage et un traitement chirurgical précoce des tumeurs. L'étude PGL-EVA (PHRC national 2004) a pour but d'évaluer les performances des différents examens radiologiques et biologiques dans le dépistage des tumeurs chez les sujets porteurs d'une mutation sur un gène SDHx (SDHD, SDHB, SDHC), suivis pendant trois ans, afin d'établir des règles de consensus pour leur prise en charge.

Objectif

Evaluer le retentissement psychologique du dépistage des tumeurs chez les sujets inclus dans l'étude PGL-EVA.

Méthodes

Une première évaluation par auto-questionnaires de la dépression (Beck 13), de l'anxiété (STAI) et de l'impact stressant du résultat du test génétique (IES-R) est faite à l'inclusion. Les scores de dépression et d'anxiété sont évalués à nouveau après les explorations (angioIRM de la tête et du cou, scanner thoraco-abdominopelvien, scintigraphies à l'123I métaiodobenzylguanidine et à l'111In-pentétréotide, dosages hormonaux) visant à dépister les tumeurs, puis une fois par an jusqu'à la fin du suivi.

Résultats

Nous rapportons les résultats des variables psychologiques mesurées à l'inclusion et après la première exploration radiologique et biologique prévue dans le cadre du protocole chez 197 sujets (96 cas index et 101 apparentés).

A l'inclusion, le score de dépression est significativement plus élevé chez les cas index que chez les apparentés (p=0,023). Le score de stress lié au résultat génétique est significativement plus élevé chez les cas index que chez les apparentés (p=0,013). Les scores d'anxiété ne sont pas différents dans les deux groupes.

Après les explorations, les scores de dépression sont plus élevés chez les cas index que chez les apparentés (p=0,034) et sont plus élevés chez les sujets ayant un diagnostic de tumeur que chez les sujets ayant un bilan normal (p=0,039). Les scores d'anxiété sont plus élevés chez les cas index que chez les apparentés (p=0,001) et sont plus élevés chez les sujets ayant un diagnostic de tumeur que chez les sujets ayant un bilan normal (p=0,001). Cependant, les variations moyennes des scores de dépression (p=0,003) et d'anxiété (p=0,006) montrent globalement une diminution de ces scores entre l'inclusion et les résultats de l'exploration.

Conclusion

Ces premiers résultats incitent à proposer une prise en charge psychologique à ces patients à risque, en particulier aux cas index. L'évaluation psychologique après les explorations montre une baisse significative des scores de dépression et d'anxiété chez l'ensemble des sujets, parallèlement à la prise en charge médicale. Les évaluations annuelles prévues durant les trois années de suivi permettront de suivre l'évolution de l'état émotionnel de ces sujets.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P561 - ANNONCE DU DIAGNOSTIC D'UNE MALADIE GENETIQUE ET PRISE EN CHARGE PSYCHOLOGIQUE DES PATIENTS ET DE LEUR ENTOURAGE. ANNOUNCE OF THE DIAGNOSIS OF A GENETIC DISEASE AND PSYCHOLOGICAL CARE OF THE PATIENT AND THEIR FAMILY

Eva TOUSSAINT (1), D LACOMBE (2)
1. Service de génétique, CHU Bordeaux, BORDEAUX, France
2. Génétique médicale, CHU pellegrin Bordeaux, Bordeaux, France

Entendre un diagnostic de maladie génétique pour un enfant est vécu par les parents comme quelque chose de brutal et de destructeur.
Même si le médecin a su trouver le meilleur moment et les mots qu'il faut, cela signe une rupture, une catastrophe avec, parfois, des sensations physiques de bascule, de désorientation temporospatiale.
C'est une atteinte dans la chair, une perte d'identité, une blessure narcissique intense. Cet effondrement s'accompagne d'un fort sentiment de culpabilité, avec parfois des constructions imaginaires non rationnelles. Tous les témoignages confirment que la révélation d'un diagnostic de maladie génétique est un moment clé de l'histoire des familles. L'annonce du diagnostic reste presque gravée dans les mémoires comme une mauvaise nouvelle marquant la fin d'un temps de vie où la maladie était absente, voire inimaginable, tout du moins non « étiquetée ». Car, même si l'annonce a été précédée d'une période d'investigations et d'examens, cela n'a pas amorti le choc de la « révélation ». Mais ce diagnostic peut aussi être source d'un grand soulagement : cela signe le point de départ d'un nouvel engagement, d'une reconstruction.
Avec la maladie génétique, c'est toute une famille qui est atteinte : les malades, qui vont devoir « gérer » au quotidien. Une maladie douloureuse, invisible pour l'entourage ; les parents qui, après l'annonce du diagnostic, vont devoir réaménager leur vie et composer avec les changements que la maladie engendre au sein de la famille ; les frères et sœurs qui vont devoir se repositionner par rapport à ce frère ou cette sœur malade et essayer de trouver des réponses à la multitude de questions qu'ils se posent, enfin, les grands-parents qui peuvent éprouver une certaine culpabilité et se demandent souvent comment aider les parents.
Tout le rôle de l'approche psychologique dans ces maladies est alors de donner ou de redonner une place à chaque membre de la famille.

Mots clés : impact de l'annonce, pratique de l'annonce, annonce souvent multiple, la cause, l'origine, la faute, la famille

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P562 - ATELIERS EUROGENTEST : UN ACCOMPAGNEMENT INTERACTIF POUR PREPARER L'ACCREDITATION DES LABORATOIRES DE GENETIQUE

E Girodon (1), MA Morris (2), AF Roux (3), B Gérard (4), S Berwouts (5), A Wynants (6), G Matthijs (5), F Thépot (7), E Dequeker (5)

1. UF de Génétique, GH H. Mondor, AP-HP, Créteil, France
2. Laboratoire de Diagnostic Moléculaire, Hôpitaux Universitaires de Genève, Genève, Suisse
3. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU de Montpellier et IURC, Montpellier, France
4. Laboratoire de diagnostic génétique, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France
5. Center for Human Genetics, Katholieke Universiteit Leuven, Leuven, Belgique
6. Management, Consulting & Research, MCR, Leuven, Belgique
7. Agence de la biomédecine, ABM, Saint-Denis, France

A l'horizon 2016, l'ensemble des laboratoires français de biologie médicale devra être accrédité selon la norme ISO 15189. Cela implique un engagement dans une démarche qualité dont les bénéfices sont d'autant plus importants que cette démarche est volontaire et s'inscrit dans un projet collectif. Le défi est de taille pour les 236 laboratoires de génétique en France, dont l'activité est hautement spécialisée, complexe et évolutive.

Depuis 2009, EuroGentest, réseau d'excellence européen qui poursuit l'objectif d'harmoniser et d'améliorer la qualité de l'offre de soins en génétique en Europe, organise en partenariat avec l'Agence de la biomédecine des ateliers en français de formation à l'accréditation pour les laboratoires de diagnostic génétique. Différents thèmes y sont abordés, notamment l'initiation à la norme et à la démarche qualité, les contrôles internes de qualité, l'évaluation externe de la qualité, la revue de direction, la motivation et le management des aspects humains liés au changement, la validation des méthodes. Trois ateliers par an sont ainsi prévus jusqu'à fin 2013.

Les six premiers ateliers ont été un franc succès, avec 131 participants venus de laboratoires de génétique moléculaire et de cytogénétique, français, belges et suisses, réunissant biologistes, ingénieurs, cadres et techniciens. La norme et la démarche qualité y sont démystifiées, les participants réalisant que la démarche est déjà installée dans leur laboratoire. Les présentations interactives, les exercices sur des cas concrets et les jeux de rôle font l'originalité de ces ateliers de formation, et favorisent les échanges et le partage des pratiques, des documents et des questionnements.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P563 - L'OFFRE DE TESTS GENETIQUES : UNE ACTIVITE NECESSAIREMENT TRANSFRONTALIERE

M Jovanovic-Lassalle (1), E Dequeker (2), M Morris (2), J Cassiman (2), S Aymé (1)
1. Orphanet, INSERM, Paris, France
2. Eurogentest, K.U. Leuven, Leuven, Belgique

Aucun pays n'est actuellement en capacité d'offrir toute la gamme des tests génétiques réalisables. Les professionnels de santé qui prescrivent ces tests et les médecins biologistes qui reçoivent les prélèvements ont donc besoin de savoir quels tests génétiques sont disponibles, où ils peuvent être réalisés, et si les laboratoires ainsi identifiés respectent une démarche qualité.
Pour répondre à ce besoin, www.orphanet.fr, créé il y a 14 ans, donne accès à une base de données des laboratoires médicaux dans le domaine des maladies rares. Les informations ont été collectées en France à partir de 1997, dans 15 pays en 2003, 26 en 2006, et 36 pays en 2011, grâce au financement de la DG Santé Publique de la Commission Européenne. En collaboration avec le réseau d'excellence européen EuroGentest, ont été ajoutées des informations sur la démarche qualité des laboratoires au cours des 5 dernières années. L'information sur les tests génétiques disponibles peut être recherchée par nom de maladie ou de gène (nom et symbole en anglais), par nom de laboratoire ou de professionnel de santé. Ces données incluent une information sur la démarche qualité des laboratoires (accréditations et contrôles de qualité externes). L'accès en ligne à ces informations est gratuit. Sur demande, un accès à l'ensemble des données peut-être donné via le site www.orphadata.org. Actuellement, 1 056 laboratoires de génétique sont enregistrés, proposant au total l'analyse de 1 811 gènes. L'offre de tests génétiques diffère beaucoup d'un pays à l'autre : Allemagne (1 449 gènes), France (1 129 gènes), Espagne (1 081 gènes), Pays-Bas (760 gènes), Italie (793 gènes), Royaume-Uni (541 gènes). L'offre de tests dans les pays de petite ou moyenne taille est très variable, de 1 à 355 gènes.
Cette situation est à l'origine de l'important flux transfrontalier d'échantillons, ce qui souligne l'importance de donner accès internationalement aux services offerts par les laboratoires de génétique d'un pays, lorsque cela est nécessaire, notamment pour les maladies très rares. La distribution de l'offre de tests génétiques en Europe sera présentée. Il sera également montré que l'offre de tests est plus large en Europe qu'aux USA.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P564 - VALIDATION DES METHODES DE DIAGNOSTIC DES MALADIES GENETIQUES EN VUE DE L'ACCREDITATION : L'EXEMPLE DE LA TECHNIQUE PCR POUR DETERMINER LA TAILLE DE LA REPETITION DE TRIPLETS DANS LE GENE FMR1.

E LASSEAUX (1), MP REBOUL (1), A ROUAULT (1), C ROORYCK (1), E GIRODON (2), AF ROUX (3), B ARVEILER (1), G MATTHIJS (4), M MORRIS (5)

1. Génétique Médicale, CHU Bordeaux, BORDEAUX, France
2. Biochimie-Génétique, CHU Henri Mondor APHP, CRETEIL, France
3. Génétique Moléculaire, CHU Montpellier, MONTPELLIER, France
4. Center of Human Genetics, KU LEUVEN, LEUVEN, Belgique
5. Médecine Génétique, Hôpitaux Universitaires de Genève, Genève, Suisse

Les tests de diagnostic génétique doivent être validés préalablement à leur mise en application au diagnostic chez les patients. La validation des tests de diagnostic constitue une exigence de la norme d'accréditation ISO 15189. Le COFRAC met à disposition sur son site internet le Guide Technique de vérification (portée A)/validation (portée B) des méthodes en Biologie Médicale SH GTA 04. Par défaut les laboratoires doivent valider (portée de type B) toute nouvelle procédure comme par exemple les nouvelles technologies, les tests "maison".Les laboratoires doivent au moins faire une vérification (portée de type A) en cas d'exigences définies et d'utilisation délimitée comme par exemple les dispositifs médicaux de diagnostic in vitro, avec marque CE. Pour réaliser au mieux la vérification/validation de ses méthodes il faut définir pour chaque examen le type de flexibilité (portée A-Vérification ou portée B-Validation) et le type de méthode (qualitatif ou quantitatif). Le choix des critères de performance et les limites d'acceptabilité pour une méthode donnée doivent se faire préalablement à l'étude expérimentale. Ils doivent refléter l'état de l'art et la performance clinique. Pour la mise en place de la validation des méthodes, le laboratoire doit disposer d'un système de management de la qualité, d'un personnel formé et compétent, de matériel adapté et validé. Dans le cadre de la mise en place de la démarche qualité dans nos laboratoires nous avons participé à l'atelier EuroGentest sur la validation des méthodes de diagnostic des tests génétiques.Nous réalisons notre premier dossier de validation de la technique PCR pour déterminer la taille de la répétition de triplets CGG dans le gène FMR1 (Sd X Fragile, FXTAS).

Ce test (type B) est classé dans la catégorie semi-quantitative (quantitative pour le COFRAC). Les critères de validation choisis pour cette technique sont: (a) la justesse qui apprécie la déviation par rapport à une valeur de référence (test d'un échantillon avec une grande expansion, un échantillon dans la zone critique, un hétérozygote avec 2 allèles près du seuil, caractérisés préalablement par séquençage), (b) la fidélité qui comprend la répétabilité (même échantillon en duplicat, même condition, même run), la fidélité intermédiaire (échantillons, jours et opérateurs différents) et la robustesse (méthodes d'extraction différentes, concentrations d'ADN différentes, thermocycleurs différents, méthode de purification différentes, changement de lots, dilutions d'amorces …), (c) la comparaison avec une méthode déjà utilisée, (d) la limite supérieure de linéarité et (e) la limite de détection d'expansion. Les contrôles de qualité constituent la validation continue du processus analytique qui fait suite à la validation initiale de la méthode. Ainsi, nous participons annuellement au programme européen d'évaluation externe de la qualité EMQN et utilisons des contrôles de qualité interne bien caractérisés, spécifiques de cette technique.

POSTER
6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P565 - DEMARCHE DE CONSEIL GENETIQUE DANS UNE FAMILLE DE DEFICIENCE INTELLECTUELLE LIEE A L'X SYNDROMIQUE RARE.
GENETIC COUNSELLING STEP FOR A RARE X LINKED SYNDROME WITH MENTAL RETARDATION.

C OHEIX (1), D FAUVERT (2), F VIALARD (1), D MOLINA GOMES (1), E ROULEAU (2), C BELDJORD (3), JC BARBOT (4), D MARTIN COIGNARD (5), R TOURAINE (6), J ROUME (1)
1. Unités de Génétique médicale et Cytogénétique, CHI Poissy/Saint Germain en Laye, Poissy, France
2. Plateforme de CGH array, Centre René Huguenin, Saint Cloud, France
3. Service de biochimie et génétique moléculaire, GHU Cochin-Saint Vincent de Paul/Site Cochin, Paris, France
4. Service de biochimie et génétique moléculaire, GHU Cochin - Saint Vincent de Paul / Site Cochin, Paris, France
5. CH Le Mans, Service de génétique, LE MANS, France
6. Service de génétique clinique chromosomique et moléculaire, CHU Saint-Etienne - Hôpital Nord, Saint Etienne, France

Introduction : Le conseil génétique pour un apparenté d'une famille touchée par une déficience intellectuelle est une démarche difficile et aléatoire, d'autant plus si le cas index n'est pas accessible. Nous présentons ici la démarche utilisée pour une patiente pouvant être considérée initialement comme conductrice d'une anomalie génétique, qui a permis l'identification d'un retard syndromique rare lié à l'X rare.

Cas clinique : La patiente est venue en consultation de génétique préconceptionnelle sous la donnée que ses trois oncles maternels présentent une déficience intellectuelle modérée à sévère.

Méthodes : La démarche utilisée a été :
1. Enquête familiale
2. Recherche d'exclusion des principales causes de retard mental
3. Obtention par l'intermédiaire des tutelles des prélèvements sanguins des cas index et des photos à tous les âges
4. Avis du médecin généticien clinicien et du staff de Dysmorphologie
5. Analyse de liaison avec un panel de 21 marqueurs de types microsatellites couvrant le chromosome X
6. Recherche d'un biais d'inactivation de l'X chez les femmes
7. Séquençage du gène d'intérêt dans l'intervalle de recombinaison.

Résultats :
1 : enquête familiale informative : une des deux sœurs de la patiente présente quelques difficultés (handicap intellectuel, obésité, travail en CAT) et un cousin germain de la lignée maternelle, décédé dans un contexte d'épilepsie sévère associée à une déficience intellectuelle. Il s'agit probablement d'une famille de déficience intellectuelle liée à l'X.
2 et 3 : exclusion des causes fréquentes de retard intellectuel : caryotypes et X Fragile (patiente, mère et oncles), ARX et CGH array (oncle le plus sévèrement atteint).
3 et 4 : sur les photos communiquées par la famille, évocation d'un syndrome de Borjeson-Forssman-Lehmann (BFL)
5 : par recombinaison chez les 4 patients atteints, identification d'un intervalle en Xq25q27.2 contenant le locus BFLS (PHF6)
6 : absence de biais de l'inactivation de l'X chez la mère de la patiente
7 : identification d'un variant sur le gène PHF6 en cours de validation et ségrégant avec la maladie.

Discussion : Le syndrome de BFL est un déficit intellectuel syndromique rare associant une obésité, une épilepsie, un hypogonadisme et une dysmorphie faciale de constitution progressive,

avec cependant des variations phénotypiques inter- et intra-familiales et des femmes conductrices symptomatiques. Les trois oncles et la sœur de la demandeuse présentent des phénotypes différents qui seront commentés.

Conclusion : La démarche multidisciplinaire incluant cytogénétique, dysmorphologie clinique, biologie moléculaire, l'implication confiante de la famille et des contacts répétés a permis de rendre un conseil génétique rassurant à la demandeuse non porteuse du variant identifié.

Mots clefs : conseil génétique, syndrome de Borjeson-Forssman-Lehmann.

POSTER
6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P566 - PARAGANGLIOMES : ENTRE DEMARCHE DIAGNOSTIQUE ET CONSEIL GENETIQUE (A PROPOS D'UNE FAMILLE)

PARAGANGLIOMAS: FROM DIAGNOSTIC APPROACH AND GENETIC COUNSELING (ABOUT A FAMILY)

S Nassereddine (1), L Mahdaoui (2), S Elaziz (3), H Dehbi (4), S Nadifi (1)
1. Laboratoire de Génétique et Pathologie Moléculaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc
2. service endocrinologie, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc
3. Service d'endocrinologie, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc
4. Laboratoire de Génétique et Pathologie Moléculaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie, casablanca, Maroc

Le paragangliome est une tumeur qui se développe à partir des paraganglions qui sont des groupes de cellules largement répandus dans l'organisme.
Le phéochromocytome est un paragangliome sécrétant des catécholamines développés
aux dépens de la médullosurrénale.; le signe majeur révélant la maladie est une hypertension artérielle secondaire, certains patients peuvent aussi ne présenter aucun symptôme et la tumeur peut être révélée fortuitement lors d'un examen radiologique réalisé pour une autre indication. 10 à 30% des sujets avec paragangliomes ou phéochromocytomes, ont une origine familiale de la maladie. Quatre maladies familiales peuvent être responsables de paragangliomes ou de phéochromocytomes. Il s'agit du paragangliome héréditaire, de la maladie de von Hippel Lindau, de la néoplasie endocrinienne multiple de type II et de la neurofibromatose de type I. Nous rapportons le cas d'une famille chez qui plusieurs apparentés ont un phéocromocytome qui s'est révélé à partir de 12-14 ans ; l'étude génétique chez le cas index a mis en évidence la présence d'une mutation au niveau du géne de la maladie de Von Hippel Lindau. Le but du présent travail est de monter la démarche à suivre devant de telle situation en insistant sur le conseil génétique et les modalités de surveillance chez les apparentés.
Mots clés : paragangnliome, daignostic , conseil génétique.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P567 - CONTRACTION D'UNE PREMUTATION DU SYNDROME DE L'X FRAGILE LORS DE LA TRANSMISSION MATERNELLE

C ZORDAN (1), C ROORYCK-THAMBO (1), C VANICATTE (1), B ARVEILER (1), L TAINE (1), D LACOMBE (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

Le syndrome de l'X fragile est dû à une expansion instable de triplets nucléotidiques CGG du gène FMR1. Cette expansion peut augmenter lors de la transmission maternelle alors qu'elle reste stable lors de la transmission paternelle. En fonction du nombre de répétitions, on peut décrire un allèle normal et stable pour le gène FMR1 (entre 5 et 49 CGG), un allèle en zone intermédiaire ou « zone grise » (entre 50 et 58 CGG), une prémutation (entre 59 et 200 CGG), et une mutation complète (au-delà de 200 CGG).

Une femme porteuse d'une prémutation est à risque de transmettre une mutation complète à ses enfants. Plus la taille de la prémutation est élevée, plus le risque de transmission d'une mutation complète à sa descendance est élevé. La contraction de l'expansion chez une femme prémutée lors de la transmission à sa descendance n'a été que très rarement décrite : une femme prémutée (110 CGG) a transmis à sa fille un allèle normal (44 CGG) (Vits et al., Hum Genet 1994, 94: 523-6), une femme en zone intermédiaire (53 CGG) a transmis à son fils un allèle normal (40 CGG) (Chiurazzi et al., Am J Med Genet 1994, 51: 517-21), et une femme prémutée (190 CGG) a transmis un allèle à 43 CGG à son fils (Tabolacci et al., Eur J Hum Genet 2008, 16: 209-14).

Pour le diagnostic, nous utilisons une approche moléculaire par quatre PCR différentes, effectuées sur un ADN traité par bisulfitation. Cette technique permet de détecter les mosaïques d'expansion CGG et les anomalies de méthylation. Le Southern-Blot vient compléter l'analyse dans certains cas. Dans le cadre d'une enquête familiale, nous avons mis en évidence une contraction de l'amplification CGG lors de l'ovogénèse. En effet, une mère avec une prémutation à 86 répétitions CGG (risque de passage à la génération suivante à une mutation complète d'environ 58%) a transmis à l'une de ses filles une prémutation à 102 répétitions CGG et à son autre fille une prémutation à 65 répétitions CGG. Nous discutons la présence d'un mosaïcisme maternel, notamment par l'étude d'un deuxième tissu (salive).

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P568 - MUTATION FAMILIALE DU GENE PTEN AVEC UN PHENOTYPE MODERE : DIFFICULTES DU CONSEIL GENETIQUE

T BUSA (1), B CHABROL (2), O PERRET (1), M LONGY (3), N PHILIP (1)

1. Unité de Génétique Clinique, Centre de référence des anomalies du développement, Hôpital Timone Enfants, Marseille, France
2. Service de neurologie pédiatrique, Hôpital Timone Enfants, Marseille, France
3. Laboratoire de génétique moléculaire, Institut Bergonié, Bordeaux, France

Le gène PTEN (Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, MIM 601628) est un gène suppresseur de tumeur impliqué dans le syndrome de Cowden, le syndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba et le syndrome Proteus-like, réunis sous le terme PHTS (PTEN hamartoma tumor syndrome). Les mutations du gène PTEN sont donc responsables soit d'un syndrome de prédisposition tumorale soit de syndromes congénitaux avec possible retard mental. Il n'existe pas de corrélation génotype-phénotype. Récemment des mutations ont été mises en évidence chez des enfants présentant une macrocéphalie et un syndrome autistique ou un retard de développement/retard mental, sans autres signes de PHTS. Le risque tumoral pour ces enfants et leurs apparentés porteurs de la mutation n'est pas évalué.

Nous rapportons le cas d'une famille dans laquelle plusieurs individus sont porteurs d'une mutation faux-sens (c.402G>C), non précédemment rapportée dans la littérature. Le phénotype de ces individus est particulièrement fruste. La macrocéphalie comprise entre +2,5DS et +7DS est présente chez tous les patients et s'accompagne d'une dysmorphie faciale modérée avec des bosses frontales et des fentes palpébrales en bas et en dehors. Aucun des individus ne présente de signe évocateur de PHTS (examen cutané normal, absence de lipome) ni de tumeur. Le tableau neurologique se résume à des troubles des apprentissages scolaires nécessitant soit une prise en charge orthophonique soit une orientation en école spécialisée. Aucun des individus ne présente de retard du développement moteur, ni de trait autistique. Les imageries cérébrales réalisées sont sans particularité en dehors d'anomalie aspécifique de la substance blanche péri-ventriculaire. Trois patients ont pu bénéficier d'une évaluation neuropsychologique. Deux ont une intelligence normale et un a un retard mental léger. Tous les patients adultes sont autonomes, avec parfois persistance de difficultés (travail en milieu protégé). Il n'existe pas d'antécédent tumoral dans la famille. Le caractère familial de la mutation a soulevé de difficiles questions concernant la mise en place du suivi, le conseil génétique et la diffusion de l'information familiale. Nous nous sommes heurtés au refus de la mère du probant de réaliser une surveillance tumorale chez elle et d'informer les membres de sa famille. La question de la responsabilité médicale après ce refus est d'autant plus délicate que la balance bénéfice/risque de cette surveillance n'est pas encore évaluée.

Cette observation permet d'élargir les indications de l'étude moléculaire du gène PTEN à l'exploration d'une macrocéphalie supérieure à +3DS associée à des difficultés des apprentissages sans autisme ni présentation cutanée. Lorsqu'une mutation est mise en évidence, une enquête familiale est proposée. Bien que le risque tumoral ne soit pas évalué, une surveillance identique à celle des patients présentant un syndrome de Cowden sera proposée aux porteurs d'une mutation.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P569 - INTERET DE L'ETUDE EXHAUSTIVE DE L'ADNMT A TRAVERS L'ANALYSE D'UNE COHORTE DE 734 PATIENTS SUSPECTS DE DEFICIT DE LA CHAINE RESPIRATOIRE.

S Bannwarth (1), AS Lebre (2), V Procaccio (3), C Jardel (4), A Chaussenot (5), B Mousson de Camaret (6), S Marlin (7), CM Dhaenens (8), C Rocher (9), G Hardy (10), A Slama (11), C Hoarau (12), K Fragaki (1), JP Bonnefont (2), A Rötig (13), N Aoutil (4), M Gilleron (4), V Desquiret-Dumas (14), P Reynier (14), J Ceresuela (15), L Jonard (16), A Devos (8), C Espil-Taris (17), J Lunardi (18), P Gaignard (11), V Paquis-Flucklinger (1)

1. Service de Génétique Médicale - Centre de Référence des Pathologies Mitochondriales - LBPG/CNRS UMR6267/INSERMU998/UNS, Hôpital Archet 2, Nice, France
2. Université Paris Descartes - AP-HP - Service de Génétique, INSERM U781 - Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
3. IBS Laboratoire de Génétique, CHU Angers, Angers, France
4. Biochimie Métabolique - Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, Groupe Hospitalier Pitié Salpétrière, Paris, France
5. Service de Génétique Médicale, Hôpital Archet 2, Nice, France
6. Service des Maladies Héréditaires du Métabolisme - Centre de Biologie et de Pathologie Est, Groupement Hospitalier Est - CHU de Lyon, Bron, France
7. Centre de Référence des surdités génétiques, Service de Génétique Clinique, APHP, Hôpital d'Enfants Armand TROUSSEAU, Paris, France
8. UF Génopathies, Laboratoire de Biochimie, Centre de Biologie, CHRU de Lille et Université Lille Nord de France, Lille, France
9. Laboratoire de Physiopathologie Mitochondriale U688, INSERM-Université Victor Segalen-Bordeaux 2, Bordeaux, France
10. Laboratoire de Biochimie et génétique Moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire de grenoble, La Tronche, France
11. Laboratoire de Biochimie, CHU de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
12. Service de Génétique Médicale - Centre de Référence des Pathologies Mitochondriales, Hôpital Archet 2, Nice, France
13. Université Paris Descartes - INSERM U781, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
14. IBS laboratoire de Génétique, CHU Angers, Angers, France
15. Service des Maladies Hérditaires du Métabolisme - Centre de Biologie et de Pathologie Est, Groupement Hospitalier Est - CHU de Lyon, Bron, France
16. Centre de Référence des surdités génétique, Laboratoire de Biochimie, APHP, Hôpital d'Enfants Armand TROUSSEAU, Paris, France
17. Service de Pédiatrie Médicale, Hôpital Pellegrin - CHU Bordeaux, Bordeaux, France
18. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble, Inserm U836, Grenoble Institut Neurosciences, La Tronche, France

Les pathologies mitochondriales sont très hétérogènes tant sur le plan clinique que moléculaire car liées à des mutations de l'ADN mitochondrial (ADNmt) ou à des mutations de l'ADN nucléaire. Actuellement, le diagnostic est principalement basé sur une recherche ciblée des mutations les plus fréquentes de l'ADNmt en fonction de signes cliniques évocateurs. Dans la plupart des cas, cette recherche est négative. A ce jour, il n'existe pas de données concernant la prévalence des mutations rares de l'ADNmt dans ces pathologies.

Notre étude a pour but d'évaluer la fréquence des mutations rares de l'ADNmt, après exclusion des anomalies les plus fréquentes, et de caractériser les tableaux cliniques associés. Il s'agit de la première étude exhaustive de l'ADNmt réalisée à partir d'une grande cohorte de 734 patients recrutés dans 10 centres français dans le cadre d'un PSTIC. Les critères d'inclusion étaient: 1- signes cliniques et/ou biochimiques et/ou histologiques évocateurs d'une maladie mitochondriale, 2- absence d'une délétion unique et des mutations 3243, 8344 et 8993 de l'ADNmt. Dans cette population, l'âge des patients varie de 0 à 79 ans et le sexe ratio est de 1,14. Dans 50,3% des cas, les premiers symptômes sont apparus avant 12 mois, dans 25,9% des cas entre 1 et 18 ans et dans 23,8% des cas après 18 ans.

La recherche de mutations hétéroplasmiques par la technique Surveyor a permis d'identifier 29 mutations pathogènes déjà décrites (4%) et 85 variants potentiellement pathogènes (11,5%) : régions codantes (51/85), ARN de structure (34/85).
Parmi l'analyse de la population avec mutations déjà décrites, les premiers signes sont apparus avant 18 ans dans 76% des cas. Dans les débuts avant 12 mois (24%), tous les enfants ont une atteinte neuromusculaire, une hyperlactacidémie et une IRM cérébrale anormale (atteinte des noyaux gris centraux, du tronc cérébral, de la substance blanche, « pseudo-stroke », atrophie cérébelleuse). Le complexe I est majoritairement déficitaire.
Dans les débuts entre 1 et 18 ans, l'atteinte oculaire (rétinite pigmentaire, atrophie optique, cataracte) est très fréquente (60% des cas). Le complexe I est également majoritairement déficitaire (isolé ou non). En cas de début à l'âge adulte, les atteintes auditives ou neurologiques associées ou non à une atteinte musculaire sont prépondérantes et l'anomalie la plus fréquemment retrouvée à l'IRM est une atrophie cérébelleuse. Aucun patient n'a d'hyperlactatémie mais tous présentent un déficit de la chaîne respiratoire incluant le complexe I isolé ou non.
Une analyse détaillée de cette cohorte est en cours. Les premiers résultats montrent : 1- l'importance de réaliser une étude exhaustive de l'ADNmt lorsque les anomalies les plus fréquentes ont été exclues puisqu'une mutation connue ou potentiellement pathogène est retrouvée dans 15,5% des cas, 2- que les mutations rares de l'ADNmt entraînent une apparition des premiers symptômes dans l'enfance dans 3/4 des cas.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P570 - LES NOUVELLES TECHNOLOGIES GUIDENT ELLE LA PRATIQUE MEDICALE ?

S Julia (1), A Soulier (2), E Rial-Sebbag (2), S Leonard (2), A Cambon-Thomsen (2)
1. Génétique Médicale, CHU Toulouse Hopital Purpan, Toulouse, France
2. Génomique et santé publique : approche interdisciplinaire, Inserm, UMR 1027, Université Toulouse III - Paul Sabatier, Toulouse, France

Le développement rapide des technologies à haut débit dites de nouvelles générations -next « Now » generation sequencing – marque un tournant « historique » en génétique humaine. Le changement d'échelle de production d'une part et la sensibilité de plus en plus grande des techniques d'autre part conduisent à détecter des variations biologiques, sans signification directe pour la santé ou non interprétables d'un point de vue médical. Les cliniciens se trouvent ainsi confrontés à des situations particulièrement complexes concernant l'interprétation et le rendu de certains résultats. Ce « tsunami » d'information bouleverse les frontières établies entre la recherche et la clinique et nous interroge sur so impact sur la relation de soin et la prise en charge des patients. Dans la pratique médicale, un certain nombre de décisions importantes pour les patients sont formalisées dans un « formulaire de consentement éclairé » qui énonce que le patient concerné a bien reçu les informations relatives aux risques et bénéfices de l'acte médical envisagé et qu'il accepte l'acte en toute connaissance de cause. Si les médecins gardent une autorité certaine sur les décisions, due à leur expertise technique, il est généralement accepté que les patients devraient en considérer les bénéfices et les risques potentiels. La démarche du consentement tend donc à rendre accessible une information utile et désirée (droit de savoir) tout en empêchant la communication sur toute information non pertinente ou non demandée (droit de ne pas savoir).

A l'heure du transfert en diagnostic des techniques de haut débit, il semble donc nécessaire d'entreprendre une mise à jour des exigences relatives à l'obtention d'un consentement éclairé prenant en considération les nouveaux enjeux auxquels les patients et les médecins sont confrontés : difficulté à sectoriser ce qui relève strictement de la clinique de ce qui relève strictement de la recherche, adéquation entre la durée du consentement et l'évolutivité des technologies, définition ce que l'on attend par « résultat accidentel» dans le cadre du diagnostic, devoir de recontacter les patients, consentement aux études additionnelles.

Faut – il envisager un formulaire de consentement spécifique ? : La question reste ouverte,

Mais il est urgent de trouver un réel schéma applicable d'information pour que le choix éclairé des patients dans ce domaine puisse être une réalité.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P571 - REVELATIONS INATTENDUES LORS D'UN EXAMEN EN PUCES A ADN QUE FAIRE ? QUE DIRE ?

ML BICHON (1), A JACQUETTE (2), P CHARLES (3), C COLAS (4), A AFENJAR (5), L BURGLEN (6), M TALLOT (7), P CHARRON (8), s CHANTOT (9), B KEREN (10), D HERON (11)

1. département de génétique et de cytogénétique, GH Pitié Salpétrière, Paris, France
2. Département de Génétique et de Cytogénétique; centre de référéence "déficience intellectuelles de causes rares", GH Pitié Salpétrière, Paris, France
3. Département de Génétique et de Cytogénétique; Centre de référence"déficiences intellectuelles de causes rares", GH Pitié Salpétrière, paris, France
4. Département de Génétique et de Cytogénétique, GH Pitié Salpétriere, paris, France
5. Département de Génétique et de Cytogénétique; centre de référence "Déficience intellectuelles de causes rares";Centre de Référence Maladies Rares « Anomalies du développement et syndromes malformatifs – Ile de France »; Centre de Référence Maladies Rares, GH Pitié Salpétrière, paris, France
6. Service de neuropédiatrie et pathologie du développement; centre de référence "déficeiences intellectuelles de causes rares"; Centre de Référence Maladies Rares « Anomalies du développement et syndromes malformatifs – Ile de France »; Centre de Référence, Hopital Trousseau, Paris, France
7. Service de neuropédiatrie et pathologie du développement, Hopital Trousseau, paris, France
8. Département de Génétique et Cytogénétique ; Centre de Référence des Maladies Cardiaques Héréditaires, CHU Pitié Salpétriere, paris, France
9. département de génétique et embryologie médicale; centre de référence "déficience intellectuelles de causes rares", Hopital Trousseau, paris, France
10. département degénétique et cytogénétique, plateau mutualisé de cytogénétique constitutionnelle du GH est, CRicm UPMC Inserm UMR_S975/CNRS UMR 7225, GH Pitié Salpétriere, paris, France
11. Département de Génétique et de Cytogénétique; centre de référence "déficiences intellectuelles de causes rares";5. Centre de Référence Maladies Rares « Maladies et Malformations congénitales du cervelet »;INSERM CRicm, UMR-S975, GH Pitié Salpétrière, Paris, France

L'analyse en puces à ADN est un examen incontournable dans le diagnostic étiologique de la déficience intellectuelle, et/ou des syndromes polymalformatifs. Elle est prescrite de plus en plus largement du fait de sa disponibilité en diagnostic de routine. Or cette analyse pan-génomique peut donner des informations sans rapport avec l'indication initiale, dont l'interprétation peut parfois être délicate, et dont la communication au patient ou à ses parents pose question.

Dans notre Centre, 1110 patients en puces SNP ont été réalisées depuis fin 2007 pour des patients atteints de déficience intellectuelle, syndromique ou non et leurs parents. Dans 61 cas (5,5%), cette étude a permis de poser un diagnostic étiologique. Par contre dans 17 cas (soit environ 1,5%) une anomalie inattendue, sans rapport avec la déficience intellectuelle a été identifiée chez le cas index (n=15) ou chez un parent (n=2). Les analyses ont montré des duplications ou des délétions impliquant des gènes (1) connus comme oncogènes (APC n=4 ; BMPR1A n=1 ; p53 n=1), (2) des gènes dominants notamment pour des maladies à révélation tardive (LMNA n=1 ; CMT1A n=1 ; HNPP n=1 ; DMD n=1), (3) des gènes impliquant des maladies liée à l'X et soulevant le statut de conductrice (DMD n=1), (4) des remaniements hétérozygotes dans des gènes responsables d'une maladie récessive (EVC n=2 ; Frataxine n=1), (5) des remaniements révélateurs d'une pathologie acquise au stade pré-clinique (Lymphome n=2). Nous pouvons ajouter deux autres révélations plus incertaines : (1) présence de CNV « prédisposant à » des pathologies à expression variable (PARK2 n=1), et (2) présence de CNP non connus comme pathogènes à ce jour et pouvant l'être ultérieurement.

Ces révélations inattendues soulèvent des questions d'ordre éthique et en premier lieu celle de l'information à donner : - doit-on informer le patient pour une pathologie autre que celle qui est mentionnée sur le consentement ? Pour, - quel bénéfice ? Individuel ? Familial ? Comment préparer le patient et/ou ses apparentés à recevoir une telle information…?

Une réflexion a déjà été entamée sur le sujet, en particulier par rapport au bénéfice médical, et à l'anticipation des résultats que ce type d'examen peut générer. L'information préalable et, le contenu du consentement doivent sûrement être reconsidérés lorsqu'une étude de puces ADN est demandée. Mais la généralisation des techniques, leur utilisation possible en diagnostic prénatal incitent à poursuivre la réflexion, la diffusion et la formation des prescripteurs aux conséquences de ces nouvelles technologies à haut débit.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P572 - TRMU GENE MUTATIONS IN TWO CASES OF ACUTE LIVER FAILURE IN CHILDREN

P Gaignard (1), O Ackermann (2), I Correia (3), P Labrune (4), E Jacquemin (2), P Therond (3), A Slama (3)

1. Laboratoire de Biochimie, CHU Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
2. Service d'hépatologie pédiatrique, CHU Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
3. Laboratoire de biochimie, CHU Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
4. Service de pédiatrie, CHU Antoine-Béclère, Clamart, France

Objective : to report the clinical, biochemical and molecular findings in two children presenting with acute liver failure.

The two patients were born at term from healthy unrelated parents. At three months of age, clinical examination revealed growth retardation associated with hepatomegaly without splenomegaly in one patient, and with splenomegaly in the other. One patient presented also axial and peripheral hypotonia with myelination anomaly whereas the other had not muscular or neurological signs.

Routine laboratory investigations showed cytolysis (elevated liver enzymes at 5-20 times normal values) and cholestasis with conjugated bilirubin. Recurrent hypoglycemia was found in association with hyperlactacidemia at about 9 mmol/L. Further investigations excluded other frequent metabolic diseases and glycogen storage disease type 1 in particular.

The findings of persistent lactacidemia and high lactate/pyruvate ratios between 30 and 50, directed the diagnosis towards respiratory chain defect. Liver and muscle biopsies for patient 1 (P1) presented a decrease of all mitochondrial DNA-dependent complexes (I, III, IV). For patient 2 (P2), a combined deficiency of complexes I and IV was detected in liver. Causative mitochondrial point mutations were ruled out.

The mitochondrial copy numbers were normal in both patients, so mitochondrial translation defect was then considered. TRMU gene was a serious candidate gene : it is a nuclear gene that encodes a mitochondria-specific enzyme responsible for 2-thiolation of tRNA and TRMU mutations were recently described in acute liver failure. Compound heterozygous mutations of TRMU were found on both patients : c.835G>A/c.248+1G>A (P1) ; c.835G>A/c.649G>A (P2). The mutation c. 835G>A (p.V279M) was firstly identified in 2009 by Zeharia et al. We report two new mutations : the mutation c.649G>A inducing the switch of a conserved glutamine 217 to lysine and a mutation in the splice site of the intron 2 (c.248+1G>A) leading to the exon 2 skipping, confirmed by cDNA analysis.

Intriguingly, patients' evolutions were radically different. Patient P1 died of liver failure aggravation at six months. However, characterisation of TRMU mutations permitted to offer a prenatal diagnosis based on molecular biology for second and normal pregnancy. Clinical becoming was considerably greater for patient P2, who is fourteen months old now, with hepatomegaly regression and good glycemia control.

In conclusion, involvement of TRMU gene mutations in infantile acute liver failure is now patent. However, a better understanding of factors that may influence disease prognosis is necessary.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P573 - TROUBLES NEUROLOGIQUES ET DIFFICULTES DU CONSEIL GENETIQUE DANS LE SYNDROME OCULODENTODIGITAL ASSOCIE A DES MUTATIONS DANS GJA1

NEUROLOGICAL MANIFESTATIONS AND GENETIC COUNSELLING CHALLENGES IN OCULODENTODIGITAL SYNDROME DUE TO GJA1 MUTATIONS

E SCHAERER (1), V BENOIT (2), A DURR (3), P HILBERT (4), F MOCHEL (5)

1. Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
2. Département de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies, Belgique
3. Département de Génétique et Cytogénétique, INSERM/UPMC/NEB UMR_S975 Génétique des affections neurodégénératives du système nerveux central, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Centre de Recherche Institut du Cerveau et de la Moelle, PARIS, France
4. Département de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies, France
5. Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Introduction :

Les troubles neurologiques dans le syndrome oculodentodigital (ODD) avec mutation dans GJA1 ont été décrits chez une minorité de patients. La complexité du conseil génétique dans cette affection sera illustrée au travers de deux familles.

Famille 1 :

La patiente consulte pour la première fois dans le service de génétique à l'âge de 48 ans.

Elle présente un trouble sphinctérien depuis l'adolescence associé à un syndrome pyramidal depuis environ l'âge de 40 ans en rapport avec une hypomyélinisation.

Elle a été opérée d'une syndactylie des 4ème et 5ème doigts et présente un nez fin avec une hypoplasie des ailes du nez et des fentes palpébrales étroites.

Les deux filles de la patiente présentent les mêmes anomalies morphologiques mais sans trouble moteur a priori.

Une anomalie dans le gène GJA1 a été identifiée chez la patiente, il s'agit de la variation de séquence c.428G>A qui n'a encore jamais été décrite à ce jour dans la littérature mais qui est présente dans un domaine très conservé de la protéine.

Les frères et sœurs ainsi que les parents de la patiente ne présentent à priori pas d'anomalie morphologique ou de trouble neurologique.

Une analyse génétique a été menée chez deux frères, une sœur et la mère de la patiente en vue de caractériser ce variant et il a été retrouvé chez la mère de la patiente, pourtant a priori asymptomatique.

Famille 2 :

La patiente consulte pour la première fois dans le service à l'âge de 34 ans. Elle présente un syndrome ODD associé à un syndrome spinocérébelleux avec hypomyélinisation. Depuis l'âge de 28 ans une raideur est apparue avec des troubles de l'équilibre et plus récemment des troubles vésicosphinctériens.

Son père présente également un syndrome ODD et un syndrome pyramidal a minima.

Une mutation hétérozygote c.93T>G a été mise en évidence dans GJA1 chez la patiente. Cette même anomalie a été identifiée chez le père de la patiente et a déjà été décrite dans la littérature associée à un syndrome ODD sans trouble neurologique.

Conclusion :

Dans le syndrome ODD avec mutation GJA1 les anomalies orthopédiques sont a priori constantes mais on ne peut exclure une pénétrance incomplète (cf mère de la patiente de la famille 1). Par ailleurs il est impossible à ce jour d'appréhender le risque de développer des troubles

neurologiques à l'âge adulte. L'expressivité variable liée aux mutations GJA1 a donc probablement été sous estimée et pose un problème en conseil génétique, en particulier dans le cadre du diagnostic prénatal.
Sur le plan physiopathologique, il est intéressant de constater que les mutations dans GJA1 codant la connexine 43 peuvent être associées à une hypomyélinisation, le gène GJA12 codant pour la connexine 47 étant également responsable d'un défaut de mise en place de la myéline (syndrome de Pelizaeus Merzbacher like)

Mots clés : syndrome oculodentodigital, trouble neurologique, conseil génétique, hypomyélinisation, expressivité variable

POSTER
6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P574 - DIAGNOSTIC PRENATAL DE LA MUCOVISCIDOSE EN TUNISIE : STRATEGIE ET ACCEPTABILITE
PRENATAL DIAGNOSIS OF CYSTIC FIBROSIS IN TUNISIA: STRATEGY AND ACCEPTABILITY

S HADJ FREDJ (1), B DAKHLAOUI (1), R OTHMANI (1), F OUALI (1), H SIALA (1), A BIBI (1), F ZOUARI (2), T MESSAOUD (1)
1. Laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire, Hôpital d'Enfants, Tunis, Tunisie
2. Service de gynécologie-obstétrique et de biologie de la reproduction, Centre de Maternité et de Néonatologie, Tunis, Tunisie

La possibilité depuis 1989 de rechercher les mutations du gène CFTR responsable de la mucoviscidose a révolutionné le conseil génétique en permettant d'offrir aux couples à risque la possibilité d'un diagnostic prénatal (DPN) de grande fiabilité. Objectifs : Nous présentons dans le présent travail notre expérience de 10 ans de diagnostic prénatal de la mucoviscidose effectué dans notre population.
Patients et méthodes : 37 familles ont bénéficié du diagnostic prénatal dont 8 à deux reprises. Le DPN a été réalisé sur l'ADN fœtal prélevé soit à partir d'une biopsie de trophoblaste (8 cas) entre la 10ème et la 12ème semaine d'aménorrhée (SA) ou plus tardivement à partir du liquide amniotique (29 cas) entre la 14ème et la 16ème SA. L'étude moléculaire a été effectuée en combinant les techniques de l'électrophorèse sur gel en gradient dénaturant (DGGE) et la chromatographie liquide haute performance en conditions dénaturantes (DHPLC) suivies par une réaction de séquençage. Une étude des microsatellites a été également réalisée en vue d'exclure une éventuelle contamination maternelle pour les fœtus déterminés hétérozygotes.
Résultats et discussion : Pour les 42 DPN réalisés pour les 37 familles étudiées, l'absence d'anomalie (fœtus hétérozygote ou normal) a été observée dans 31 cas, alors que 11 fœtus ont été déterminés malades, les parents sont ainsi informés et une interruption médicale de la grossesse est proposée au couple. Ce pendant, nous avons noté un cas de refus d'avortement pour des raisons éthiques.
La stratégie moléculaire adoptée dans la présente étude en combinant deux techniques performantes de détection des mutations (DGGE et DHPLC) suivies par une réaction de séquençage procure une sécurité supplémentaire dans le diagnostic prénatal qui constitue aujourd'hui la seule réalité offerte aux couples à risque.
Conclusion : Les résultats obtenus confirent l'acceptabilité du DPN dans notre pays puisque 90.9% des familles analysées ont accepté l'interruption de la grossesse puisqu'il s'agit d'une maladie fortement invalidante et de prise en charge lourde.
Mots clés : Mucoviscidose-Diagnostic prénatal.

POSTER
6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P575 - VALEURS LIMITES DE L'HEMOGLOBINEA2 : ETUDE HEMATOLOGIQUE ET MOLECULAIRE.
BORDERLINE HEMOGOBINA2 VALUES: HEMATOLOGICAL AND MOLECULAR STUDY.

MOTS CLES : BETA-THALASSEMIE, HBA2, INDICE DE DISCRIMINATION, HEMOGRAMME

CA Sahli (1), A Bibi (1), R Othmani (2), N Laouini (1), L Jouini (1), S Hadj Fredj (1), S Hajjam (2), B Dakhlaoui (2), H Siala (1), F Ouennich (2), F Ouali (1), T Messaoud (1)
1. Laboratoire de Biochimie, Hôpital d'Enfants, Tunis, Tunisie
2. Laboratoire de Biochimie, Hôpital d'enfants, Tunis, Tunisie

La beta-thalassémie est une anomalie quantitative de synthèse des chaînes beta de l'hémoglobine et s'accompagne d'une anémie hémolytique. L'identification de l'allèle beta-thalassémique est basée sur la présence de globules rouges microcytaires hypochromes avec une élévation de l'hémoglobine A2 (HbA2) > 3.8%). Dans certains cas, le génotype beta-thlassémique à lui seul ou son interaction avec d'autres défauts moléculaires (alpha ou delta-thalssémies), peuvent rendre cet allèle totalement silencieux avec des données hématologiques et une HbA2 normales ou à la limite de la normale ce qui rend difficile l'identification des porteurs du trait beta-thalassémique.
Pour pallier à cette difficulté, nous avons établi un protocole de diagnostic utilisé pour la première fois en Tunisie et basé sur des simples paramètres hématologiques (IDR, Hb, VGM et GR) qui permettent de calculer des indices de discrimination. Ces derniers rendent possible l'identification des porteurs d'un trait beta-thalassémique parmi ceux ayant des valeurs limites de l'HbA2.
Notre étude a porté sur 119 sujets répartis en 3 groupes: 37sujets présentant une HbA2 limite, 37 normaux et 45 beta-thalassémiques mineurs. Ces deux derniers groupes ont servi de témoins.
Pour chaque individu nous avons recherché 8 mutations beta-thalassémiques parmi les plus fréquentes en Tunisie par PCR-allèle. Parallèlement, nous avons réalisé un dosage du Récepteur soluble de la transferrine et une numération de la formule sanguine (NFS). A partir des données de la NFS, nous avons calculé cinq indices de discrimination ((Metzer index (MI), England and Frazer index (EF), RDW Index (RDWI), Ricerca Index (RI), Green and King Index (GK)). Les calculs statistiques et les comparaisons ont été effectués moyennant le test ANNOVA sur SPSS (version 18).
Après avoir calculé la sensibilité, la spécificité et l'Index de Youden pour chaque indice, nous avons noté que le Metzer Index est le plus informatif avec un pouvoir de discrimination de 67.89%. Selon cet indice, le trait beta-thalassémique doit être évoqué devant toute valeur

POSTER
6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P576 - INDICATION DU DEPISTAGE DU CANCER DU SEIN PAR IRM MAMMAIRE CHEZ LES FEMMES A HAUT RISQUE FAMILIAL SANS MUTATION BRCA1 OU BRCA2: CORRELATION ENTRE LES MODELES

DE CALCUL DE RISQUE ET LA PRISE EN CHARGE EN ONCOGENETIQUE A L'HOPITAL RENE HUGUENIN

C SENECHAL (1), E FOURME (1), T KOGUT-KUBIAK (1), A DE PAUW (2), D STOPPA-LYONNET (3), C NOGUES (4)
1. Service d'oncogénétique, Hôpital René Huguenin, Institut Curie, Saint-Cloud, France
2. Service d'oncogénétique, Institut Curie, Paris, France
3. service d'oncogénétique, Institut Curie, Paris, France
4. Service d'oncognétique, Hôpital René Huguenin, Institut Curie, Saint-Cloud, France

L'absence d'identification de mutation constitutionnelle délétère des gènes BRCA1 ou BRCA2 est fréquente chez les patientes qui présentent une histoire personnelle et/ou familiale évocatrice d'une prédisposition génétique au cancer du sein et/ou de l'ovaire. Ce résultat est observé dans près de 85% des cas lors d'une première analyse familiale BRCA1/2. L'oncogénéticien doit cependant proposer lors de la consultation de résultat, des recommandations de prise en charge mammaire adéquates, adaptées au risque résiduel de cancer du sein inhérent aux antécédents personnels et familiaux de la patiente testée. Cette étude rétrospective se propose d'examiner les recommandations de prise en charge faites lors de cette consultation, déterminées de façon empirique au regard des estimations de risques tumoraux calculés par différents modèles prenant en compte différents paramètres. L'objectif final de l'étude est de définir un seuil reproductible à partir duquel l'indication d'un suivi annuel par IRM mammaire pourrait être retenue.
Les niveaux de surveillance mammaire proposés à 50 patientes reçues en consultation d'oncogénétique en 2008, à l'Hôpital René Huguenin, pour remise des résultats d'une analyse BRCA1/2 négative ont été recueillis. Ils ont été corrélés aux risques calculés par différents modèles disponibles : BOADICEA, BRCApro, IBIS, et Claus, et à deux scores manuels : le score de Manchester et le score d'Eisinger. Enfin les recommandations américaines, qui préconisent le recours à la surveillance par IRM mammaire lorsque le risque de cancer du sein est supérieur à 20-25% ont été comparées à la pratique de surveillance observée à l'Hôpital René Huguenin.
À l'issue de l'analyse, il est proposé de retenir comme seuils de l'introduction de l'IRM mammaire un risque de cancer du sein controlatéral à 10 ans supérieur ou égal à 6% chez un cas index calculé par le modèle BOADICEA et un risque de cancer du sein supérieur ou égal à 25% calculé par ce même modèle chez une apparentée indemne de moins de 40 ans. L'utilisation de ces seuils permettrait d'aider l'oncogénéticien à proposer des recommandations de surveillance mammaire reproductibles.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P577 - L'ACCES AUX EXPLORATIONS GENETIQUES DANS LE CONTEXTE GEOPOLITIQUE, GEOECONOMIQUE, SOCIAL ET ENVIRONNEMENTAL ACTUEL DE LA TUNISIE: CONTRAINTES ET PERSPECTIVES

N Abdelmoula Bouayed (1)

1. Laboratoire d'histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie

L'évolution des connaissances, les progrès technologiques et les découvertes thérapeutiques récentes (thérapeutiques ciblées), ont été suivis d'une augmentation considérable de l'offre de tests génétiques et du développement des services en génétique. Dans ce contexte, la génétique est devenu et deviendra de plus en plus, une partie intégrante de la pratique médicale.

Sur le plan juridique, l'accès aux tests génétiques et leurs réalisations tout en respectant les droits de l'homme (bioéthique), même à l'échelle internationale, est encore très hétérogène et peu fourni en terme de règlementations (l'agence de la biomédecine). Toutefois, l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE) a publié en 2007 des recommandations visant à améliorer le respect de normes minimales de qualité et de sécurité des services d'analyse génétique et la commission Eurogentest, réseau d'excellence dans le domaine des tests génétiques, a été créé pour but d'harmoniser et d'améliorer la qualité des services génétiques en Europe.

En Tunisie, quelques lois abordent l'accès aux tests génétiques. La prise en charge des explorations génétiques par la Caisse Nationale d'Assurance Maladie de Tunisie (CNAM), est codifiée au niveau de la liste des actes paramédicaux (Actes de Biologie médicale : Chapitre IV : Génétique) bien que la génétique devrait avoir un code propre par rapport à la biologie clinique polyvalente. La liste des tests génétiques inclus dans cette nomenclature très généraliste et n'obéissant pas à une révision régulière en tenant compte de l'évolution trop rapide du domaine, nécessite de plus un accord préalable de la CNAM ainsi qu'une convention sectorielle. Pourtant, dans de nombreuses pathologies, la prise en charge génétique est largement justifiée sur prescription du médecin généticien sans besoin d'un accord préalable.

Dans le contexte géopolitique, géoéconomique, social et environnemental actuel, la Tunisie qui démarre, dans le cadre des pays MENA au Nord Afrique, un nouveau contrat social pour le développement avec promotion de la bonne gouvernance et lutte anti-corruption, elle va profiter du programme MENA–OCDE pour l'investissement ayant pour objet de promouvoir de vastes réformes visant à améliorer le climat des investissements, à renforcer les partenariats régionaux et internationaux et à favoriser une croissance économique durable dans toute la région.

Pour mobiliser tout son potentiel et tirer pleinement profit de ce programme et de la révolution biotechnologique, la Tunisie est appelée à mener une politique coordonnée aussi bien au niveau national qu'international et à être avant-gardiste dans le domaine de la génétique appliqué à la santé avec mise au point d'un cadre juridique adéquat. Elle est appelée aussi à assurer une transition stratégique vers la médecine régénérative et la médecine prédictive et préventive pour contriber efficacement au bien être du citoyen Tunisien.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P578 - RECURRENCE INTRAFAMILIALE DE LA GLYCOGENOSE DE TYPE II : FAUT-IL ELARGIR LE DEPISTAGE DES HETEROZYGOTES ?

INTRAFAMILIAL RECURRENCE OF GLYCOGENOSIS TYPE II : IS IT NECESSARY TO ENLARGE HETEROZYGOTE DETECTION ?

C CAILLAUD (1), C CAILLAUD (2), F CHAPON (3), A DOBRESCU (4), A DOBRESCU (5), R FROISSART (6), P LAFORET (5), N LEPORRIER (7)

1. Service de Biochimie et génétique Moléculaire, Groupe Hospitalier Cochin Saint Vincent de Paul, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris, France
2. Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
3. Service d'Anatomie Pathologique, CHU de Caen Côte de Nacre, Caen, France
4. Département de Génétique Médicale, UMF de Craiova, Craiova, Roumanie
5. Institut de Myologie, Centre de Référence de Maladies Neuromusculaires, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris, France
6. Service des Maladies Héréditaires du Métabolisme et Dépistage Néonatal, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
7. Laboratoire de Cytogénétique Prénatale, Service de Génétique, CHU de Caen Côte de Nacre, Caen, France

La maladie de Pompe ou glycogénose de type II est une maladie lysosomale à transmission récessive autosomique due au déficit de l'alpha-glucosidase ou maltase acide. Elle existe sous trois formes cliniques caractérisées par une atteinte des muscles squelettiques et respiratoires (adulte et juvénile), parfois associée à une cardiomyopathie (infantile). Le diagnostic repose sur la mise en évidence d'un déficit enzymatique dans les leucocytes (et/ou fibroblastes). L'étude moléculaire est utile pour le conseil génétique et elle a parfois un intérêt pronostique (mutations communes).

Nous présentons ici deux familles avec une récidive de la maladie soit sur deux générations successives (formes adultes), soit dans deux branches différentes (formes adulte et infantile), ceci en dehors de tout contexte de consanguinité. Dans la première famille, Mme H. est atteinte d'une forme adulte de glycogénose de type II objectivée par un déficit en maltase acide dans les leucocytes. L'étude moléculaire a montré chez elle la présence des mutations c.2104C>T et c.-32-13T>G. La fille de Mme H. (27 ans) ayant consulté récemment pour une élévation isolée des CPK, un dosage de maltase acide pratiqué chez elle dans les leucocytes et les fibroblastes a permis d'établir le diagnostic de glycogénose de type II. Cette dame est hétérozygote composite pour les mêmes mutations que sa mère. Le dépistage chez le père (d'origine américaine) a confirmé la présence chez lui de la mutation c.-32-13T>G à l'état hétérozygote. La fille a donc héritée de la mutation c.2104C>T maternelle et de la mutation c.-32-13T>G paternelle, cette dernière étant une mutation commune dans les formes tardives de la maladie.

Dans la deuxième famille, une glycogénose de type II a été diagnostiquée en 1991 chez Mme L. à l'âge de 60 ans par mesure de l'activité maltase acide dans les leucocytes. La patiente étant maintenant décédée, son génotypage a été déterminé a posteriori par étude de ses descendants (non atteints). Elle était vraisemblablement porteuse de la mutation c.-32-13T>G et de la délétion de l'exon 18 (mutation assez commune). Dans cette même famille, une maladie de Pompe infantile a été diagnostiquée en 1987 chez le petit neveu de Mme L. Cet enfant présentait un déficit profond en maltase acide et est décédé avant l'âge d'un an. L'étude moléculaire réalisée ultérieurement chez les deux parents a montré la présence de la délétion de l'exon 18 chez la mère (apparentée à Mme L.) et de la mutation p.N403D chez le père.

Ces observations posent la question du conseil génétique intrafamilial dans la glycogénose de type II. Le généticien est habituellement rassurant pour les conjoints des sujets apparentés à un patient, compte tenu de la faible prévalence de la maladie et en l'absence de consanguinité. Cependant, un dépistage d'hétérozygote par dosage enzymatique et recherche des mutations communes pourra utilement être proposé afin de réduire le risque de récidive.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P579 - TO UNDERSTAND THE GENETIC BASIS OF A DISORDER OF SEXUAL DEVELOPMENT IS A PRIMORDIAL KEY IN THE MEDICO-PSYCHO-SOCIAL ASSISTANCE OF AFFECTED INDIVIDUALS AND MEMBERS OF THEIR FAMILY

N Abdelmoula Bouayed (1)

1. Laboratoire d'histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie

Disorders of sex development (DSD) are defined as congenital conditions in which development of chromosomal, gonadal or anatomical sex is atypical. DSD incidence is estimated at 1 in 4500 births, but when minor variants like hypospadias are considered, the incidence rises to close to 1%. There are many different causes of DSD and many medical diagnoses can be associated with the same appearance of genitalia.

As the mechanisms behind DSD are complex it is very important that any individual with a DSD has the necessary investigations to confirm the underlying cause even where a clinical diagnosis is possible. Part of the investigations is to identify the precise genetic cause at cytogenetic and/or molecular level, to improve the clinical and psychological management, to better interpret long-term follow-up and predict psychosexual outcome.

Here, we report a serial of 20 patients who were referred to us at the adult age because of a reproductive problem (such as primary amenorrhea). All patients had a hidden or neglected disorder of sexual development. For some of them, sexual ambiguity was severe and their condition was dramatic at the psychological and social levels. In fact, they discover their DSD at the puberty and they decide to conceal it from the family, since they find the accurate professional for him they confess and try to have the right information and the eventual solution.

Through this work, we want to highlight some concepts like education regarding sexual development and related genetic causes via media, organizations and support groups associations for DSD patients and parents, which should be adhered to our society to predict striking conditions of DSD diagnosed at the puberty or later in adulthood.

POSTER
6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P580 - GENECA : EXPERIENCE PILOTE ALSACIENNE POUR LA PRISE EN CHARGE MULTIDISCIPLINAIRE DES PERSONNES PREDISPOSEES HEREDITAIREMENT AUX CANCERS.

GENECA: A FRENCH REGIONAL NETWORK FOR MULTIDISCIPLINARY MANAGEMENT OF PATIENTS AT RISK OF INHERITED CANCERS

D LEJRI (1), C CORDIER (2), M VOLTZENLOGEL (3), L HAAR (4), M IRABE (5), L GILLERON (6), AL WETZEL (7), H NEHME-SCHUSTER (8), JM LIMACHER (9), JP FRICKER (10), CM MAUGARD (11)
1. Unité d'Oncogénétique, Hémato-Oncologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, CRLCC Paul Strauss, Strasbourg et Hôpital Pasteur, Colmar, Strasbourg, France
2. Unité d'Oncogénétique, Hémato-oncologie., Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, CRLCC Paul Strauss, Strasbourg et Hôpital Pasteur, Colmar, Strasbourg, France
3. Centre coordination GENECA, Unité d'Oncogénétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Unité d'Oncogénétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg et Centre Paul Strauss, Strasbourg, Hôpital Pasteur, Colmar, Strasbourg, France
5. Unité d'Oncogénétique, Hémato-Oncologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Unité d'oncogénétique, Hémato-oncologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg et Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
7. Unité d'Oncogénétique, Hémato-Oncologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg et Hôpital Pasteur, Colmar, Colmar, France
8. Unité d'Oncogénétique, Hémato-oncologie, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
9. Unité d'Oncogénétique, Hémato-Oncologie, Hôpital Pasteur, Colmar, France
10. Unité d'Oncogénétique, Hémato-Oncologie, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
11. Laboratoire de diagnostic génétique et Unité d'Oncogénétique, Hémato-Oncologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg et Hôpital Pasteur Colmar, Strasbourg, France

En 2009, l'Institut National du Cancer lançait un appel d'offre (plan cancer 2009-2013) pour la mise en place d'expériences pilotes visant à intégrer, faciliter et optimiser la prise en charge globale des personnes prédisposées héréditairement aux cancers recrutées dans les consultations d'oncogénétique. Suite à cet appel d'offre, nous avons créé un réseau régional nommé « GENECA » pour « Génétique du Cancer en Alsace». Il fédère actuellement les consultations d'oncogénétique appartenant à trois établissements de santé en Alsace et représente un total de plus de 1200 consultations par an. Quatre missions nous ont été confiées : 1. Mettre en place un suivi individualisé des personnes prédisposées héréditairement aux cancers tenant compte de leur âge, leur histoire médicale, leur histoire familiale de cancers et des dernières connaissances dans le domaine, 2. Coordonner cette prise en charge au niveau régional, 3. Permettre aux patients d'accéder aux stratégies de soins adéquates, à l'information et au support psychologique nécessaire pour les interventions de chirurgie prophylactique, 4. Assurer une vocation de recours et d'expertise pour les dossiers complexes.
Notre équipe comporte un médecin généticien investigateur principal et trois médecins oncogénéticiens, Nous avons recruté un conseiller en génétique, une assistante de coordination, une assistante de recherche clinique, un technicien de recherche clinique à 50% et disposons de 40% de temps psychologue. La participation à ce projet est proposée aux personnes porteuses d'une mutation de BRCA1/2 et aux personnes porteuses d'une mutation sur l'un des gènes MMR. Il est également offert aux personnes appartenant à des familles à haut risque de cancers du sein sans mutation de BRCA1/2 identifiée mais dont le risque cumulé sur la vie de survenue d'un cancer du sein est ≥ 20% avec le modèle BODICEA.
Nous présenterons les actions mise en œuvre pour accompagner les patients dans leur suivi : plan personnel de suivi, carnets d'information et de suivi, lettre d'information, consentements ainsi que les actions proposées pour l'intégration des professionnels de santé dans notre réseau : établissement de partenariats sur le long terme avec les acteurs de santé locaux, régionaux, voire interrégionaux , lettre d'information, adhésion à une charte, information ciblée avec le réseau de dépistage colo-rectal ADECA, conférences.

Enfin, nous envisagerons les développements innovants en cours : prototype de fiche de réunions de concertation pluridisciplinaire adapté aux spécificités en oncogénétique (module intégré au Dossier Communiquant en Cancérologie) avec le soutien du réseau régional de cancérologie CAROL, intégration des résultats d'examen dans le Dossier Médical Personnalisé avec le GCS e-Santé Alsace permettant l'accès partagé des informations du patient aux praticiens en charge du patient, développement d'un outil dédié à la gestion du suivi des individus à risque participant au projet.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P581 - REEVALUATION DU ROLE DE APOE DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER: UN GENE MAJEUR SEMI-DOMINANT

E Genin (1), D Hannequin (2), D Wallon (2), K Sleegers (3), M Hiltunen (4), O Combarros (5), MJ Bullido (6), S Engelborghs (7), P De Deyn (7), C Berr (8), F Pasquier (9), B Dubois (10), G Tognoni (11), N Fiévet (12), N Brouwers (3), K Bettens (3), B Arosio (13), E Coto (14), M del Zompo (15), I Mateo (5), J Epelbaum (16), A Frank-Garcia (17), S Helisalmi (18), E Porcellini (19), A Pilotto (20), P Forti (21), R Ferri (22), E Scarpini (23), G Siciliano (11), V Solfrizzi (24), S Sorbi (25), G Spalletta (26), F Valdivieso (6), S Vepsäläinen (18), V Alvarez (14), P Bosco (22), M Mancuso (11), F Panza (24), B Nacmias (25), P Bossù (26), O Hanon (27), P Piccardi (15), G Annoni (28), D Seripa (20), D Galimberti (23), F Licastro (19), H Soininen (18), JF Dartigues (29), MI Kamboh (30), C Van Broeckhoven (3), JC Lambert (12), P Amouyel (12), D Campion (2)

1. Variabilité génétique et maladies humaines, Inserm, Paris, France
2. Centre National de Référence maladie d'Alzheimer du sujet jeune, Inserm, Rouen, France
3. Neurodegenerative Brain Diseases Group, University of Antwerp, Antwerp, Belgique
4. Department of Neurology, Kupio University Hospital, Kupio, Finlande
5. Neurology Service and CIBERNED, University of Cantabria, Santander, Espagne
6. Centro de Biologia Molecular Severo Ochoa (UAM-CSIC) and CIBERNED, Universidad Autonoma, Madrid, Espagne
7. Institute Born Bunge, University of Antwerp, Antwerp, Belgique
8. Inserm U1061, Université de Montpellier, Montpellier, France
9. Departement of Neurology, CHRU de Lille, Lille, France
10. Centre National de Référence maladie d'Alzheimer du sujet jeune, Hopital Pitié-Salpétrière, Paris, France
11. Departement of Neuroscience, University of Pisa, Pisa, Italie
12. Institut Pasteur de Lille, Inserm, Lille, France
13. Internal Medecine, University of Milano, Milano, Italie
14. Genetic Molecular Unit, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, Espagne
15. Section of Clinical Pharmacology, University of Cagliari, Cagliari, Italie
16. Université Paris Descartes, Inserm, Paris, France
17. Servicio de Neurologia, Hospital Universitario La Paz, Madrid, Espagne
18. Departement of Neurology, Kupio University Hospital, Kupio, Finlande
19. Department of Experimental Pathology, University of Bologna, Bologna, Italie
20. Geriatric Unit & Gerontology-Geriatric Research Laboratory, IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza, San Giovanni Rotondo, Italie
21. Department of Internal Medicine Cardiology and Hepatology, University Hospital S. Orsola-Malpighi, Bologna, Italie
22. IRCCS, Oasi Maria SS, Troina, Italie
23. Department of Neurological Sciences, University of Milano, Milano, Italie
24. Department of Geriatrics, University of Bari, Bari, Italie
25. Department of Neurological Sciences, University of Florence, Florence, Italie
26. Department of Clinical and Behavioral Neurology, IRCCS Santa Lucia Foundation, Roma, Italie
27. Broca Hospital, University Paris Descartes, Paris, France
28. Department of Clinical Medicine and Prevention, University of Milano-Bicocca, Monza, Italie
29. INSERM U897 Victor Segalen University, Inserm, Bordeaux, France
30. Department of Human Genetics and Alzheimer's Disease Research Centre, University of Pittsburgh, Pittsburgh, USA

Si le rôle du gène APOE dans la maladie d'Alzheimer est connu depuis de nombreuses années, peu d'études ont jusqu'à présent évalué la pénétrance des différents génotypes. La plupart des études se sont contentées de donner des Odds-ratios (OR), c'est-à-dire des risques relatifs par rapport au génotype de référence APOE-33. Cependant, ces OR ne permettent pas d'avoir une idée du risque pour un individu de développer la maladie au cours de sa vie ou « lifetime risk » (LTR). Pour estimer ces LTR, les données disponibles étaient jusqu'à très récemment trop peu nombreuses, en particulier pour les porteurs homozygotes de l'allèle APOE4. Dans cette étude, nous avons tiré profit des importantes données disponibles dans le cadre des études d'association pangénomiques réalisées dans cette pathologie pour évaluer les LTR à partir des génotypes APOE de 7351 malades et 10132 témoins d'origine Caucasienne et des données d'incidence de l'étude de Rochester et de l'étude PAQUID. Nous montrons qu'à 85 ans, le LTR pour tous les génotypes APOE confondus est de 11% pour les hommes et 14% pour les femmes. Pour des porteurs homozygotes de l'allèle APOE4, ces risques sont au même âge de 51% pour

les hommes et 60% pour les femmes et pour les hétérozygotes APOE-34, ils sont de 23% et 30%. Ces risques sont plus similaires à ceux des gènes majeurs impliqués dans les maladies monogéniques comme BRCA1 dans le cancer du sein qu'à ceux des allèles de susceptibilité impliqués dans les maladies complexes. De plus, en stratifiant nos données par groupes d'âge, nous montrons que l'allèle APOE4 est un facteur de risque non seulement pour la maladie d'Alzheimer tardive mais également pour les formes plus précoces. Au total, ces résultats soulignent très clairement la nécessité de réévaluer l'impact du gène APOE dans la maladie d'Alzheimer.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P582 - PROFIL MUTATIONNEL DU GENE AAAS CHEZ DES FAMILLES MAGHREBINES

H Aloulou (1), F Fakhfakh (2), G Ben Salah (2), M Hajji (3), H Kamoun (4), F kallabi (2), S Ghorbel (5)

1. Service de Pédiatrie, hôpital Hédi Chaker – Sfax, sfax, Tunisie
2. laboratoire de génétique moléculaire humaine, faculté de médecine de sfax, sfax, Tunisie
3. service de Pédiatrie Urgence, hôpital d'Enfants - Tunis, tunis, Tunisie
4. Service de Génétique Médicale, hôpital Hédi Chaker – Sfax, sfax, Tunisie
5. Service de Chirurgie Pédiatrique, hôpital d'Enfants - Tunis, tunis, Tunisie

Le gène AAAS est localisé sur le chromosome 12 en 12q13 et code pour une protéine appelée ALADIN. Les mutations de ce gène sont responsables du syndrome d'Allgrove ; Qui est une maladie héréditaire rare associant une alacrymie, une achalasie et une maladie d'Addison. Ce syndrome est transmis selon le mode autosomique récessif.

La présence d'une mutation majoritaire gène AAAS (IVS14+1G→A) dans les pays du Maghreb nous a mené à la rechercher en priorité chez tout patient suspect de ce syndrome.

Notre étude concerne 27 patients, atteints de syndrome d'Allgrove, appartenant à 19 familles Maghrébines (17 familles tunisiennes et 2 familles libyennes). Les 27 patients présentent des signes en faveur de ce syndrome.

Notre stratégie consiste en une amplification par PCR de la région flanquant la mutation majoritaire. La détection de la mutation se base sur la technique PCR-RFLP. La mutation décrite abolit un site de restriction de l'enzyme MvaI.

La PCR-RFLP et le séquençage ont montré la présence de la mutation majoritaire IVS14 + 1G → A chez 26 patients atteints du syndrome d'Allgrove à l'état homozygote et chez les parents à l'état hétérozygote, alors qu'elle est absente chez une patiente présentant des signes en faveur du syndrome d'Allgrove. Le séquençage du gène AAAS chez cette patiente nous a permis d'identifier une mutation déjà décrite dans la population algérienne. C'est une mutation faux-sens R286X au niveau de l'exon 9 responsable d'un changement du codon CGA qui code pour l'Arginine en un codon stop TGA. Cette mutation est à l'état homozygote chez la patiente et à l'état hétérozygote chez les parents.

La mutation (IVS14 + 1G → A) a déjà été décrite chez des familles Algériennes, Tunisiennes et Marocaines ; Sa présence chez 17 familles Tunisiennes et 2 familles Libyennes conforte l'hypothèse d'une ancienne mutation ancestrale Maghrébine. L'identification de la mutation faux-sens R286X, déjà décrite dans la population algérienne, chez une famille Tunisienne évoque l'existence d'un deuxième fondateur plus récent.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P583 - GDIT : LA BASE DE DONNEES DES MALADIES GENETIQUES EN TUNISIE

L Romdhane (1), A Ochi (1), S Abdelhak (1)

1. UR "Maladies Orphelines d'Origine Génétique", Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie

Les bases de données de mutations responsables des maladies génétiques sont d'une importance cruciale dans le domaine de la recherche et du diagnostic. Les bases de données populationnelles regroupent des mutations et des informations sur les maladies génétiques spécifiques à une population données et fournissent un excellent outil d'aide à la décision. Nous nous sommes proposé de regrouper toutes les données publiées concernant les pathologies héréditaires affectant la population Tunisienne dans une base de données la plus exhaustive possible. Cette base de données est destinée à des professionnels de la santé cliniciens et chercheurs de différentes disciplines. La base de données a été programmée avec le « framework » open source « Symfony » et sera d'accès libre sur internet. La fouille et la « curation » manuelle des données ont permis de collecter des informations sur plus de 400 maladies génétiques, dont la majorité (62.9 %) sont autosomiques récessives. Leur classification montre que les malformations congénitales (30.5 %), les maladies métaboliques et endocriniennes (23 %) et les maladies du système nerveux (17 %) sont les 3 groupes pathologiques majeurs. Plus de 430 mutations ont été décrites comme la cause de 50 % des affections rapportées. Parmi ces lésions géniques, des mutations potentiellement fondatrices impliquées dans 68 maladies génétiques différentes ont été identifiées. Ces mutations fondatrices peuvent être spécifiques à la population Tunisienne ou bien partagées avec des populations de l'Afrique du Nord et du Moyen Orient. L'intégration des données, cliniques, épidémiologiques et moléculaires spécifiques à la population Tunisienne ainsi que des populations voisines fournira un outil d'aide à la décision pour les chercheurs et les cliniciens. Elle facilitera le diagnostic moléculaire de ces affections, aidera à mieux estimer leur fardeau sur la santé publique et à établir des programmes de prévention à l'échelle nationale et régionale.

POSTER
6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P584 - PLAKOPHILIN2B ISOFORM IS NOT DETECTED IN HUMAN HEART TISSUE: CONSEQUENCES FOR THE GENETIC SCREENING OF ARRHYTHMOGENIC RIGHT VENTRICULAR CARDIOMYOPATHY

E Gandjbakhch (1), V Fressart (2), P Charron (3), G Lorin de la Grandmaison (4), F Simon (2), F Gary (5), A Vite (5), B Hainque (2), F Hidden Lucet (1), M Komajda (1), E Villard (5)
1. Service de Cardiologie, Hopital Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. Service de Biochimie Métabolique Unité de Cardiogénétique, Hopital Pitié Salpêtrière, Paris, France
3. Serice de Génétique, Hopital Pitié Salpêtrière, Paris, France
4. Service d'anatomie pathologique et de médecine légale, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France
5. UMR956, INSERM, Paris, France

PLAKOPHILIN2B ISOFORM IS NOT DETECTED IN HUMAN HEART TISSUE: CONSEQUENCES FOR THE GENETIC SCREENING OF ARRHYTHMOGENIC RIGHT VENTRICULAR CARDIOMYOPATHY

E. Gandjbakhch1,2, P. Charron1,2,3*, V. Fressart4*, G. Lorin de la Grandmaison5, F. Simon4, F. Gary1, A. Vite1, B. Hainque4, F. Hidden-Lucet2, M. Komajda1,2, E. Villard1

*: these authors contributed equally to this work

1 UPMC Univ Paris 6, INSERM, UMR-S956, AP-HP, 91 Boulevard de l'Hôpital F-75013 PARIS, France
2AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Département de Cardiologie, Paris, F-75013, France;
3 AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Département de Génétique, Paris, F-75013, France;
4AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Service de Biochimie Métabolique, Unité de Cardiogénétique et Myogénétique, Paris, F-75013, France;
5 AP-HP, Hôpital Raymond Poincaré, Service d'anatomie pathologique et de médecine légale, 92380, Garches, France.

Keywords : Cardiomyopathy; ARVC ; Plakophilin-2 ; Genetics; mutation.

Background
Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC) is an inherited heart disease caused predominantly by heterozygous Plakophilin-2 (PKP2) mutations. However, pathogenicity of variants is not always fully determined. PKP2 encodes two isoforms, the longest (PKP2b) including the alternatively spliced exon 6, which is routinely screened for molecular diagnosis, despite the absence of data on cardiac expression of PKP2 isoforms. This study address the pathogenicity of PKP2 exon 6 mutations by focusing on a missense variant located in this exon.

Methods and results
We identified the PKP2 heterozygous p.Arg490Trp variant in two unrelated ARVC probands (absent from 470 controls). In silico analysis suggests that PKP2 exon 6 is an Alu-derived sequence with very low expression level. Transcriptional and western blot analysis confirmed that PKP2A, which does not include the sequence encoded by exon 6, was the only clearly detectable isoform in all human heart samples analyzed (from six different controls and the proband). Moreover, in the proband's sample, p.Arg490Trp was not associated with aberrant exon 6 splicing or mutant mRNA down-regulation. Finally, we identified in this proband a heterozygous missense variant (p.Glu2343Lys) in Desmoplakin likely to be the disease-causing mutation.

Conclusion

We demonstrated that PKP2A was the major isoform expressed in human heart tissue and that PKP2B protein was undetectable. Our results strongly suggest that p.Arg490Trp and other variants located in PKP2 exon 6 should not be considered as disease-causing mutations but rather rare polymorphisms. These results have important consequences for the interpretation of PKP2 mutation screening and subsequent familial genetic counseling.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P585 - RMGH, « REVUE MEDITERRANEENNE DE GENETIQUE HUMAINE » : POURQUOI UNE REVUE MEDITERRANEENNE DE GENETIQUE HUMAINE ?

A Mégarbané (1), A sefiani (2), V delague (3)

1. Unité de Génétique Médicale, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban
2. Département de Génétique Médicale, (2) Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, Rabat, Maroc
3. UMR_S 910, Inserm/Université Aix-Marseille, Marseille cedex 05, France

La sensibilisation aux problèmes liés aux maladies génétiques est essentielle dans les pays du sud de la Méditerranée. En effet, en dépit des forts taux de consanguinité dans les pays du sud de la Méditerranée, les maladies génétiques ne sont pas encore considérées comme un problème de santé publique majeure dans ces pays. Nos différents travaux ont montré que les pathologies rencontrées dans les pays du sud de la Méditerranée sont souvent spécifiques de cette région. Malheureusement, les résultats des études de mutations dans les pathologies spécifiques du bassin Méditerranéen, du Moyen-Orient et du Maghreb, ne sont pas publiés dans des revues internationales, étant considérées sans intérêt pour les pays du reste du monde (en particulier l'Europe occidentale et l'Amérique du Nord). Il est néanmoins de plus en plus clair que la prévention de ces maladies, par le biais d'un diagnostic et d'un conseil génétique appropriés, pourra permettre une forte diminution de la morbidité, non seulement dans les pays du Sud, mais également dans les pays du Nord de la Méditerranée, qui font face à des flux migratoires importants en provenance de ces pays. De façon très concrète, les maladies génétiques rares étant souvent très hétérogènes, la recherche du défaut génétique à l'origine de la pathologie peut souvent s'avérer longue, coûteuse et fastidieuse. Ainsi, une meilleure connaissance de ces maladies, via une diffusion plus large, au travers, notamment, de revues telles que celle que nous souhaitons développer, pourra permettre d'orienter le diagnostic vers certaines formes de maladies et de déterminer plus rapidement la cause de la pathologie chez ces patients. Par ailleurs, certains problèmes éthiques, liés à des facteurs socioculturels régionaux mériteraient de pouvoir être discutés. Dans un contexte de développement et d'améliorations des relations « Nord-Sud », il nous semble primordial de pouvoir favoriser les échanges scientifiques et la publication de travaux de recherche issus de ces pays.

A l'initiative de l'Agence Universitaire de la Francophonie et du Professeur André Mégarbané, à Beyrouth, nous avons donc décidé de créer une revue de génétique humaine francophone, en ligne, intitulée Revue Méditerranéenne de Génétique Humaine. Les éditeurs de la revue seront trois chercheurs de pays Méditerranéens : Pr André Mégarbané, généticien à la Faculté de Médecine de l'Université Saint-Joseph à Beyrouth (Liban), Professeur Abdelaziz Sefiani, Faculté de Pharmacie de Rabat (Maroc), et Valérie Delague, UMR_S 910, Marseille.

Le site de la revue est accessible sur le lien www.rmgh.org et les articles sont téléchargeables gratuitement. La revue est équipée d'un système de soumission en ligne, et tous les articles font l'objet d'une expertise par des spécialistes du domaine. Notre objectif est de faire indexer la revue.

Le deuxième numéro va sortir fin 2011, et nous vous invitons à nous soumettre vos article, revues, nouvelles.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P586 - LE SYNDROME DE GOLTZ : A PROPOS D'UN CAS

MA Ksentini (1), N Belguith (1), N Gharbi (1), Th Kamoun (2), H Turki (3), H Kamoun (1)
1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
2. Service de pédiatrie, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
3. Service de dematologie, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

L'association de malformations à des lésions cutanées peut poser des difficultés diagnostiques vue la multitude des syndromes rares sui peuvent être en cause. Dans ces cas, la recherche bibliographique prend tout son intérêt dans l'orientation du diagnostique.

Nous rapportons le cas d'une fille âgée de 10 ans, issue de parents non apparentés, qui nous a été adressé pour dysmorphie faciale avec syndrome poly malformatif associé à des lésions cutanées.

L'examen a noté une dysmorphie faciale avec des yeux globuleux, une asymétrie faciale, un hypotélorisme, des oreilles mal ourlées, des anomalies de la dentition et une microcéphalie. Au niveau des extrémités, l'examen a trouvé un pouce gauche hypoplasique, désaxé, un pied gauche en pince de homard, et une syndactylie du 3ème et 4ème orteils droits.
L'examen des organes génitaux externes a noté une hypoplasie des grandes lèvres ainsi qu'un seul orifice large. L'échographie pelvienne a montré un vagin borgne avec absence des gonades au niveau du pelvis. Par ailleurs, l'examen ophtalmologique était normal.
L'examen dermatologique a noté la présence de larges lésion blanchâtres déprimés atrophiques à disposition linéaire suivant les lignes de Blashko, des lésions nodulaires jaunâtres de consistance molle au niveau de la de cuisse droite et du genou gauche ainsi que la présence de papillomes péri vulvaire.
Cette association symptomatique est fortement évocatrice du syndrome de Goltz (ou hypoplasie dermique en aires). Il s'agit d'une maladie extrêmement rare, caractérisée par une atteinte cutanée polymorphe associée à des anomalies très variées, essentiellement squelettique, oculaire et dentaire avec dysmorphie faciale. Ce syndrome, touchant les tissus d'origine ectodermique et mésodermique, se transmet selon le mode dominant lié au chromosome X. Le gène responsable PORCN, est localisé en Xp11.23. Certains auteurs ont décrit des patients ayant une délétion du bras court du chromosome X. Le caryotype de la patiente est normale (46,XX).

Le diagnostic du syndrome de Goltz est difficile, vue ça rareté (< 1/1.000.000) ainsi que son polymorphisme. La recherche dans la littérature d'une telle association a été de grand aide pour poser le diagnostic. La prise en charge doit être multidisciplinaire.

POSTER

6. Dépistage, conseil génétique et éthique

P587 - LES MUTATIONS FONDATRICES DANS LA POPULATION TUNISIENNE : IMPLICATION DANS LE DIAGNOSTIC DES MALADIES GENETIQUES DANS LES POPULATIONS DE L'AFRIQUE DU NORD ET DU MOYEN ORIENT

L Romdhane (1), R Kefi-Ben Atig (2), H Azaeiz (3), N Ben Halim (3), K Dellagi (4), S Abdelhak (1)

1. UR "Maladies Orphelines d'Origine Génétique", Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
2. UR "Maladis Orphelines d'Origine Génétique", Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
3. UR "Maladies Orphelines d'Origine Génétique", Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
4. UR "Maladies Génétiques d'Origine Génétique", Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie

La Tunisie a connu tout le long de son histoire plusieurs invasions et flux migratoires de différentes populations et groupes ethniques comme les Phéniciens, Romains, Vandales, Arabes, Ottomans et les Français. Comme dans les pays voisins de l'Afrique du Nord et du Moyen Orient, la population Tunisienne exhibe un fort taux de mariages entre apparentés ; ce qui a pour conséquent l'apparition des désordres génétiques à des fréquences relativement importantes. Plusieurs facteurs peuvent contribuer à l'expression récurrente d'un phénotype morbide monogénique. Parmi ces facteurs, les mutations fondatrices qui apparaissent chez un individu ancestral et diffusent dans la population dans les communautés isolées. Une revue de la littérature disponible à travers PubMed et autres sources a permis l'identification de deux classes de mutations fondatrices dans la population Tunisienne. La première classe inclut les mutations à effet fondateur spécifiques de la population Tunisienne décrites dans 27 maladies génétiques. Par contre, le deuxième groupe représente des haplotypes fondateurs rapportés non uniquement chez des patients Tunisiens mais aussi chez des patients originaires d'autres pays de l'Afrique du Nord et du Moyen Orient. Ce groupe est impliqué dans 48 maladies héréditaires. Plusieurs maladies gravement handicapantes sont causées par des mutations fondatrices incluant, par exemple, des génodermatoses sévères telles que xeroderma pigmentosum et l'épidermolyse bulleuse. Notre étude peut aider à élaborer des moyens appropriés pour le dépistage des hétérozygotes, une meilleure évaluation de l'amplitude du fardeau des maladies génétiques et dans la mise en place de mesures préventives au niveau régional.

POSTER

7. Développement et foetopathologie

P588 - ASSOCIATED MALFORMATIONS AMONG INFANTS WITH ANOPHTHALMIA AND MICROPHTHALMIA

C STOLL (1), Y ALEMBIK (1), B DOTT (1), MP ROTH (1)

1. Génétique Médicale, Faculté de Médecine, Strasbourg, France

Infants with anophthalmia and microphthalmia very often have other associated congenital anomalies. The reported frequency and types of associated malformations vary between different studies. The purpose of this investigation was to assess the frequency and types of associated malformations among infants with an/microphthalmia in a geographically well defined population from 1979 to 2007 of 389,301 consecutive births. Of the 96 infants with an/microphthalmia born during this period (prevalence at birth of 2.5 per 10,000), 90 % had associated malformations. Infants with associated malformation were divided into recognizable conditions (24 (25 %) infants with chromosomal and 16 (17%) with non chromosomal conditions), and non recognizable conditions (46 (48 %) infants with multiple malformations). Trisomies 13 and 18 were the most frequent chromosomal abnormalities. Amniotic bands sequence, CHARGE association, Meckel-Gruber syndrome and VACTERL association were most often present in recognizable non chromosomal conditions. Malformations in the musculoskeletal, cardiovascular and central nervous systems were the most common other anomalies in infants with multiple malformations and non recognizable conditions. A de novo heterozygous loss-of-function point mutation in SOX2 was reported in 10 to 20 % of severe bilateral an/microphthalmia. The frequency of associated malformations in infants with anophthalmia and microphthalmia emphasizes the need for a thorough investigation of these infants. Routine screening for other malformations especially musculoskeletal, cardiac and central nervous systems anomalies may need to be considered in infants with anophthalmia and microphthalmia, and referral of these infants for genetics evaluation and counseling seems warranted.

POSTER
7. Développement et foetopathologie

P589 - GLI3 EST RAREMENT IMPLIQUE DANS LE SYNDROME OFD ASSOCIE A DES ANOMALIES DE LA LIGNE MEDIANE

M AVILA (1), B ARAL (2), P CALLIER (3), N GIGOT (4), M PAYET (5), C RAGON (5), J THEVENON (1), L PASQUIER (6), E LOPEZ (7), A GOLDENBERG (8), C BAUMANN (9), V CORMIER (10), S MARLIN (11), A MASUREL (1), F HUET (12), T ATTIE-BITACH (10), L FAIVRE (13), C THAUVIN-ROBINET (14)
1. Centre de Génétique, Centre de Références Maladies Rares-Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Integration Est, Faculté de Médecine, Hôpital d'Enfants, CHU, Dijon, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Plateau Technique de Biologie / Equipe émergente GAD, IFR Santé STIC, CHU / Université de Bourgogne, Dijon, France
3. Laboratoire de Cytogénétique, Plateau Technique de Biologie / Equipe émergente GAD, IFR Santé STIC, CHU / Université de Bourgogne, Dijon, France
4. Centre de Génétique, Centre de Référence Maladies Rares - Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Integration Est / Laboratoire de Génétique Moléculaire, Plateau Technique de Biologie / Equipe émergente GAD, IFR Santé STIC, CHU / Université de Bourgogne, Dijon, France
5. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Plateau Technique de Biologie, CHU, Dijon, France
6. Service de Génétique, CHU, Rennes, France
7. Equipe émergente GAD, IFR Santé STIC, Université de Bourgogne, Dijon, France
8. Département de génétique, CHU, Rouen, France
9. Service de génétique, Hôpital Robert-Debré, APHP, Paris, France
10. Département de Génétique et INSERM U781, Hôptal Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France
11. Service de génétique, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France
12. Service de Pédiatrie 1, Hôpital d'Enfants, CHU, Dijon, France
13. Centre de Génétique, Centre de Références Maladies Rares-Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Integration Est / Equpe émergente GAD, IFR Santé STIC, Faculté de Médecine, Hôpital d'Enfants, CHU/ Université de Bourgogne, Dijon, France
14. Centre de Génétique, Centre de Références Maladies Rares-Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Integration Est / Equpe émergente GAD, IFR Santé STIC, Faculté de Médecine, Hôpital d'Enfants, CHU / Université de Bourgogne, Dijon, France

Les syndromes oro-facio-digitaux (OFD) représentent un groupe hétérogène d'entités cliniques caractérisées par l'association de malformations de la face, la cavité buccale et les membres. Treize sous-types sont actuellement distingués, caractérisés par leurs signes spécifiques extra-OFD. Le gène OFD1 est responsable du syndrome OFD de type I et des mutations du gène TMEM216/JBS2 ont été rapportées chez deux patients présentant un syndrome OFD de type VI. Récemment, 6 mutations (6/21 cas, 29%) ont été identifiées dans le gène GLI3, responsable des syndromes de Greig et Pallister-Hall (PHS). Ces 6 patients présentaient des signes de syndrome OFD associés à des anomalies de la ligne médiane. Nous rapportons les résultats du séquençage du gène GLI3 chez 8 cas présentant un syndrome OFD et des anomalies de la ligne médiane, incluant un déficit hypophysaire (5/8 cas) avec une interruption de la tige pituitaire (3/5 cas), un hamartome hypothalamique (HH) (1/8 cas), une agénésie du corps calleux (1/8 cas) et une imperforation anale (1/8 cas). Aucune mutation du gène GLI3 n'a été identifiée. La différence de résultats entre notre cohorte et celle récemment publiée peut être expliquée par la fréquence plus élevée de l'HH (4/6 cas) dans la cohorte publiée que dans notre série (1/8 cas). A noter également, que 5 des 6 mutations présentent une position identique à des mutations déjà publiées comme responsables de PHS. Mettant en commun les deux articles, la fréquence des mutations du gène GLI3 dans les syndromes OFD avec anomalies de la ligne médiane est de 21%, et de 36% si un HH est associé. Certains signes cliniques apparaissent plus présents chez les patients porteurs de mutations GLI3 que chez les autres : HH (4/6 cas) versus (1/8 cas), polydactylie mésoaxiale 4/6 (67%) versus 1/23 (4%) (p=0.003), et imperforation anale 3/6 (50%) versus 2/23 (9%) (p=0.046), qui sont la triade permettant le diagnostic de PHS.
En conclusion, dans une cohorte de patients atteints d'un syndrome OFD, le gène GLI3 ne peut pas être considéré comme un gène majeur même en présence d'anomalie de la ligne médiane. Cependant des mutations devraient être recherchées chez ces patients en présence d'un signe

clinique très évocateur de PHS (HH, polydactylie mésoaxiale, épiglotte bifide et/ou imperforation anale).

POSTER

7. Développement et foetopathologie

P590 - LA MUTATION C.268C>T (P.R90X) DU GENE PORCN CHEZ UN NOURRISSON MAROCAIN ATTEINT DU SYNDROME DE GOLTZ

I Ratbi (1), M Mansouri (2), S Chafai Elalaoui (3), K Kutsche (4), A Sefiani (1)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, rabat, Maroc
2. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, rabat, Maroc
3. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, rabat, Maroc
4. Institut fur Humangenetik, Universitatsklinikum, Hambourg, Allemagne

Le syndrome de Goltz ou hypoplasie dermique en aires (Focal Dermal Hypoplasia, FDH) est essentiellement caractérisé par des zones d'atrophies cutanées et de papillomes périorificiels, une onychodystrophie, une alopécie cicatricielle, des malformations squelettiques à type de syndactylie, ectrodactylie, des anomalies dentaires et une atteinte oculaire. Près de 200 cas sont rapportés dans la littérature. Ce syndrome est de transmission dominante liée à l'X. Des mutations hétérozygotes du gène PORCN en Xp22.31 sont associées au syndrome de Goltz chez les filles. Nous rapportons l'observation d'un nourrisson de 6 mois, de sexe féminin, 2ème d'une fratrie de deux, non consanguine et sans histoire familiale particulière. Elle présentait une hypotrophie globale pour son âge, une asymétrie faciale droite, une ectrodactylie droite, une syndactylie bilatérale des 2ème-3ème orteils, des zones d'hypoplasie systématisées roses et achromiques avec des lésions molluscoïdes et un aspect pseudopapillomateux péribuccal. Par ailleurs, son développement psychomoteur était à ce stade normal. L'échocardiographie, l'échographie trans-fontanellaire, abdomino-rénale et l'examen ophtalmologique étaient normaux. Ce tableau clinique était très en faveur d'un syndrome de Goltz. L'étude moléculaire du gène PORCN a identifié chez la patiente la mutation c.268C>T (p.R90X) à l'état hétérozygote, absente chez ses parents. La confirmation du diagnostic nous a permis d'adapter la prise en charge clinique et le suivi de la patiente et de formuler un conseil génétique à ses parents.

POSTER

7. Développement et foetopathologie

P591 - FAMILLE MAROCAINE AVEC AMELOGENESE IMPARFAITE, SURDITE ET LESIONS CUTANEES DES PAUMES DES MAINS : NOUVEAU CAS DE SYNDROME D'HEIMLER

I Ratbi (1), M El alloussi (2), K Zouaidi (3), H Ramdi (3), A Sefiani (1)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, rabat, Maroc
2. Département d'Odontologie Pédiatrique, Faculté de Médecine Dentaire, Université Mohamed V Souissi, rabat, Maroc
3. Département d'Odontologie Pédiatrique, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, rabat, Maroc

Le syndrome d'Heimler (MIM ≠ 234580) est caractérisé par une surdité neurosensorielle, une hypoplasie généralisée de l'émail des dents définitives, alors que la dentition primaire est normale, et des anomalies des ongles à type de lignes de Beau et de leuconychie. Il a été décrit pour la première fois par Heimler et al. en 1991 chez une sœur et un frère non consanguins. En 2003, Pollak et al. rapporte une nouvelle famille avec deux enfants ayant une surdité neurosensorielle et une hypoplasie de l'émail dentaire mais sans les anomalies des ongles précédemment décrites. Il suggère un mode de transmission autosomique récessif pour le syndrome d'Heimler. Quelque dizaine de cas ont été décrits à ce jour. L'anomalie génétique sous-jacente est encore inconnue.

Nous rapportons l'observation d'une sœur et de son frère, âgés respectivement de 14 et 10 ans, nés de parents sains non apparentés, et derniers d'une fratrie de 4. Ils présentent tous les deux une surdité neurosensorielle bilatérale, une amélogenèse imparfaite et des lésions pigmentées et réticulées au niveau de la paume de la paume de la main, en faveur d'un syndrome de Heimler. Le frère a en plus à l'examen buccodentaire un mesiodens non précédemment rapporté. Ils n'ont par ailleurs pas d'autres anomalies somatiques. Nous faisons le point à partir de cette observation sur ce rare syndrome.

POSTER
7. Développement et foetopathologie

P592 - LA STOMATOCYTOSE HEREDITAIRE A CELLULES DESHYDRATEES (DHST) : UNE CAUSE HEMATOLOGIQUE RARE D'ANASARQUE FŒTALE RECIDIVANTE. A PROPOS D'UNE OBSERVATION FAMILIALE.

SOP BLESSON (1), ANN SUC (2), JER POTIN (3), YAN BACQ (4), CHR BINET (5), VAL PICARD (6), FRA PERROTIN (3)
1. Service de Génétique, Hôpital Bretonneau, TOURS, France
2. Srvice de Néonatalogie, Hôpital Clocheville, TOURS, France
3. Unité de Médecine Fœtale, CHU Bretonneau, TOURS, France
4. Pathologies digestives et hépatiques, CHU Trousseau, TOURS, France
5. Hématologie Biologique, CHU Bretonneau, TOURS, France
6. Hématologie Biologique, CHU Kremlin Bicêtre, LE KREMLIN BICETRE, France

La stomatocytose héréditaire à cellules déshydratées (DHSt) : une cause hématologique rare d'anasarque fœtale récidivante. A propos d'une observation familiale.

S Blesson1, AL Suc2, J Potin3,Y Bacq4, C Binet5,V Picard6,F Perrotin3.

1 : service de Génétique, CHU Tours ; 2 : service de Néonatalogie, CHU Tours ; 3 : Unité de Médecine Fœtale, CHU Tours ; 4 : service de Pathologies digestives et hépatiques, CHU Tours ; 5 : service d'Hématologie Biologique, CHU Tours ; 6 : service d'Hématologie Biologique, CHU KBicêtre.

Nous rapportons le cas de deux enfants de sexe différent, issus d'une même union non consanguine, ayant présenté une anasarque fœtale non immune, spontanément régressive en fin de grossesse pour le plus âgé des deux. Le bilan étiologique habituellement réalisé en anténatal dans une telle situation s'est révélé négatif (caryotype fœtal, PCR virales, screening métabolique sur surnageant de liquide amniotique). L'atteinte fœtale se manifestait par une nuque épaisse et par une ascite relativement abondante, non cloisonnée.
Le diagnostic de stomatocytose héréditaire à cellules déshydratées a été évoqué et confirmé après la naissance du deuxième enfant atteint. La mère, elle-même porteuse mais asymptomatique, présentait cependant, avant ses deux grossesses, une hyperferritinémie chronique (240 ng/ml) et un VGM augmenté (100µ), sans anémie. Ces troubles hématologiques maternels n'avaient pas été explorés.
Cette pathologie de la perméabilité de la membrane érythrocytaire se transmet sur un mode autosomique dominant. Le(s) gène(s) en cause n'est/ne sont pas encore identifié(s). Son incidence n'est pas clairement établie, car probablement sous-diagnostiquée. Le diagnostic repose sur la mise en évidence d'anomalies érythrocytaires morphologiques mais surtout sur l'abaissement de l'index de déformabilité des hématies lors du test d'ektacytométrie en gradient d'osmolarité.
En postnatal, la DHSt se traduit habituellement soit par une anémie à tendance macrocytaire, soit par une hémolyse compensée avec taux normal d'hémoglobine (le cas de la mère des deux enfants) et une réticulocytose augmentée. Il s'avère que la DHSt peut également se manifester en anténatal par des œdèmes fœtaux qui, du fait de leur abondance, peuvent parfois mettre en jeu le pronostic vital du fœtus (hydrops) et dès lors, nécessiter des ponctions évacuatrices itératives. L'expressivité est variable au sein d'une même famille. Le plus souvent ces œdèmes s'amendent progressivement et ne récidivent pas ultérieurement. Les mécanismes de survenue de ces épanchements périnataux ne sont pas établis à l'heure actuelle.
Cette cause rare d'anasarque fœtale récidivante doit être évoquée et recherchée chez les parents quand le bilan étiologique habituel est négatif, car elle est d'évolution le plus souvent favorable en postnatal.

POSTER

7. Développement et foetopathologie

P593 - HETEROGENEITE GENETIQUE DES COTES COURTES-POLYDACTYLIE DE TYPE II/ IV

J EL Hokayem (1), C Huber (1), A Couvé (1), J Aziza (2), G Baujat (1), C Baumann (3), R Bouvier (4), DP Cavalcanti (5), F Collins (6), AL Delezoide (7), L Faivre (8), M Gonzales (9), D Johnson (10), M Le Merrer (1), A Levy-Mozziconacci (11), P Loget (12), D Martin-Coignard (13), J Martinovic (14), G Mortier (15), MJ Perez (16), J Roume (17), G Scarano (18), C Thauvin-Robinet (19), A Munnich (1), V Cormier-Daire (1)

1. Université Paris Descartes, Inserm U781, Department of Genetics, Hôpital Necker, Paris, France
2. Laboratoire d'anatomie et cytologie pathologiques, Hôpital Purpan, Toulouse, France
3. Unité fonctionnelle de génétique clinique, Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. Centre de pathologie EST, Hôpital Louis Pradel, Hôpital Pierre Wertheimer, Hôpital Femme Mère enfant, Lyon, France
5. Programa de Genética Perinatal, Departamento de Genética Médica, FCM, UNICAMP, Campinas, São Paulo, Bresil
6. Western Sydney Genetics Program, Dept of Clinical Genetics, Children's Hospital at Westmead, Sydney, Australie
7. Service de Biologie de Développement, Université Paris Diderot, Hôpital, Robert Debré, Paris, France
8. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs Grand Est, Centre de Génétique, équipe émergente GAD - IFR Santé STIC, Université de Bourgogne, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France
9. Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
10. Sheffield Clinical Genetics Service, Sheffield Children's NHS Foundations Trust, Sheffield, Royaume-Uni
11. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Nord, Marseille, France
12. Service d'anatomie et cytologie pathologiques, Génétique Médicale, Centre hospitalier universitaire de Rennes, Rennes, France
13. Pôle de biopathologie, UF 3162,Centre hospitalier, Le Mans, France
14. Unit of Fetal Pathology, Cerba Laboratory, Cergy Pontoise, France
15. Departments of Medical Genetics, Antwerp University Hospital, Antwerp, Belgique
16. Service de Génétique Médicale et Chromosomique, Centre de Référence Maladies Rares Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs Sud-Languedoc Roussillon, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU Montpellier, Université Montpellier, Faculté de Médecine de Montpellier-Nîmes, Montpellier, France
17. Service de génétique médicale, centre hospitalier Poissy-Saint-Germain, Poissy-Saint-Germain, France
18. Department of Genetics, Hôpital du Mans, Mans, France
19. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs Grand Est, Centre de Génétique, équipe émergente GAD - IFR Santé STIC, Université de Bourgogne, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France

Le groupe des chondrodysplasies avec côtes courtes-polydactylie (CCP I-IV) fait partie des ciliopathies et comprend quatre formes létales, transmises sur un mode autosomique récessif, caractérisées par une étroitesse thoracique, un aspect en trident du bassin, une polydactylie inconstante et des malformations viscérales diverses. Le CCP de type II (Majewski) est caractérisé par des polysyndactylies pré et post-axiales et une agénésie du tibia ou un tibia ovoïde. Il est proche du CCP de type IV (Beemer-Langer) qui s'en distingue par une polydactylie pré-axiale inconstante, une incurvation des os de l'avant-bras, et un aspect trapu du tibia. Récemment, des mutations dans NEK1 ont été identifiées dans trois familles CCP de type II. NEK1 code pour une serine-thréonine kinase impliquée dans le développement neuronal et la coordination du cycle cellulaire lors de la ciliogenèse. Le but de notre étude est l'analyse de NEK1 dans 12 familles CCP de type II et sept familles CCP de type IV. Parmi les types II, cinq familles sont consanguines originaires du Liban, d'Inde, de Madagascar, de Pakistan et de France et sept familles non-consanguines originaires d'Europe, du Brésil, du Vietnam et d'Haïti. Parmi les types IV, trois familles sont consanguines originaires de Turquie, de Tunisie et du Maroc et quatre non-consanguines originaires d'Algérie, de France et du Royaume-Uni. Dans les quatre familles consanguines de type II, nous avons identifié quatre mutations distinctes présentes à l'état homozygote dont deux mutations faux-sens (p.Gly145Arg, p.Leu253Ser), une insertion/délétion entrainant un décalage du cadre de lecture (p.Asp949GlufsX6) et une mutation non sens (p.Arg127X). Les mutations ségrégent avec la maladie et sont absentes chez 200 chromosomes contrôles. NEK1 a été exclu chez tous les autres patients type II/IV. Au sein des CCP de type II, nous avons comparé le groupe muté (M) et le groupe non muté (NM) et trouvé des différences de fréquence pour 1) hamartome lingual (60% M/ 14.3% NM), 2) kystes rénaux (80% M/ 57.1% NM), 3) malrotation intestinale (40% M/ 14.3% NM), 4) malformations

cardio-vasculaires (40% M/ 28.6% NM), 5) malformations cérébrale (71.4% NM/ 40% M) et en particulier l'holoprosencéphalie (43% NM) et la polymycrogyrie (28.6% NM) ne sont observées que dans le groupe NM. Cependant, ces différences sont non significatives en raison de la petite taille de notre cohorte. Par ailleurs, nous avons comparé CCP II et IV et trouvé que tous les fœtus masculins (65%) ont des malformations uro-génitales. Les autres malformations fréquentes sont: rénales (71%), cérébrales (71%), oro-faciales (60%), intestinales (41.2%) et cardio-vasculaires (35.3%). En conclusion, nous confirmons la très grande diversité clinique des CCP II/IV et démontrant une hétérogénéité génétique au sein du type II avec NEK1 impliqué dans 33% des cas à ce jour. Les études en cours devraient permettre d'identifier de nouveaux gènes responsables de CCP de types II/IV.

POSTER

7. Développement et foetopathologie

P594 - CAS RARE DE SYNDROME DE COKAYNE-LIKE CHEZ UNE PATIENTE MAROCAINE

A Lamzouri (1), I Ratbi (2), V Laugel (3), A Sarasin (4), A Sefiani (2)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, rabat, Maroc
2. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, rabat, Maroc
3. Service de pédiatrie, CHU Strasbourg-Hautepierre, Strasbourg, France
4. Genomes and cancers, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France

Le syndrome de Cockayne (OMIM # 216400) est une maladie génétique rare dont la prévalence est estimée à 1 sur 100 000. Il est caractérisé par un retard de croissance staturo-pondéral, une dysmorphie faciale typique, une photosensibilité, un dysfonctionnement neurologique progressif et une dégénérescence multi-systémique entrainant un vieillissement accéléré et un décès prématuré des enfants. Le spectre clinique montre une grande variabilité dans la sévérité et l'âge d'apparition des manifestations : La forme du syndrome de Cockayne la plus fréquente (type I) se manifeste durant la première année de vie. Des cas de début plus précoce avec des symptômes plus sévères (type II) et des cas de début plus tardif avec des symptômes plus modérés (type III) ont également été décrits. Cette pathologie est de transmission autosomique récessive, elle est causée par des mutations au niveau des gènes ERCC6 et ERCC8 codant pour des protéines intervenant dans le système de réparation des nucléotides modifiés NER (Nucleotide Excision Repair) et dans la transcription de l'ADN en ARN. Le diagnostic de confirmation se fait soit sur culture de fibroblastes dermiques par la mesure de l'efficacité de transcription après irradiation aux UV-C, soit par étude moléculaire.

Nous rapportons dans ce travail l'observation d'une fille âgée de 7 ans, consanguine (1er degré), ayant un frère décédé de la même symptomatologie, qui présente cliniquement tous les signes majeurs et plusieurs signes mineurs du syndrome de Cockayne type I, mais chez qui la mesure de l'efficacité de transcription après irradiation aux UV-C était normale, et l'étude moléculaire des deux gènes ERCC6 et ERCC8 n'a trouvé aucune mutation. Nous avons ainsi retenu chez cette patiente le diagnostic de syndrome de Cockayne-like.

POSTER
7. Développement et foetopathologie

P595 - ANOMALIES DE FERMETURE DU TUBE NEURAL ISOLEES : UN MODELE DE PATHOLOGIE EPIGENETIQUE DU DEVELOPPEMENT PRECOCE ?

Ben GERARD (1), Jea BENOIST (2), Ann DELEZOIDE (3), San ELBAZ (2), Ste GAZAL (4), Ran Khaddour-Issa (5), Fra MULLER (6)
1. Laboratoire de biochimie génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. Biochimie-Hormonologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
3. Biologie du développement, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. Plateforme Bioinformatique, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France
5. Laboratoire de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
6. Biochimie Hormonologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France

Les défauts de fermeture du tube neural (DFTN) désignent des malformations congénitales fréquentes survenant avant la 4ème semaine du développement embryonnaire (1/1000 naissance). Le mécanisme à l'origine des DFTN isolés est complexe : des facteurs de prédisposition génétique ont été retrouvés dans moins de 5 % des cas (mutation de VANGL1 et 2 ; variants MTHFR et MTRR) tandis qu'une carence maternelle preconceptionnelle en acide folique (AF) serait causale dans environ 50 % des cas isolés.
A ce jour, le mécanisme reliant la carence maternelle en AF et la genèse de cette anomalie embryonnaire n'est pas connu. L'AF permet d'alimenter le cycle de transméthylation et donc la production de S-adenosylméthionine (SAM), le principal donneur de méthyle de l'organisme. Nous avons posé l'hypothèse que la carence maternelle préconceptionnelle en AF serait à l'origine d'un stock ovocytaire insuffisant en SAM. Cette carence en SAM chez le zygote pourrait être à l'origine d'un défaut de reméthylation de son génome lors de ses tous premiers stades de développement.
Pour tester cette hypothèse, nous avons analysé des métabolites de la voie de transméthylation et le méthylome fœtale sur une cohorte prospective de cas atteints de DFTN (mère, fœtus), comparativement à une cohorte témoin appariée sur le terme et sur une collection de liquides amniotique de fœtus atteints. Comme attendu, une diminution des folates intra-érythrocytaires ($p= 0,0002$) a bien été retrouvée dans le sang de mères dont le fœtus était atteint de DFTN. Parallèlement, des concentrations significativement augmentées dans le LA de fœtus atteints de DFTN d'homocystéine et de Guanidinoacetate ($p= 0.0023$ et $p= 0.0009$ respectivement) ont été observées. Ces résultats confirment le rôle de la carence en folates maternels dans la genèse de ces DFTN, et montrent qu'il existe une perturbation de la voie de transméthylation chez le fœtus persistant même au second trimestre de grossesse. L'étude de la méthylation du génome fœtal (analyse de 27.000 CpG par puce Illumina), sur deux tissus d'origine embryologique différente a montré une modification significative du profil de méthylation des gènes du développement chez les fœtus atteints. De plus, parmi les gènes les plus significativement différents entre les deux groupes et présentant une variation de méthylation de plus de 10 %, 31 % (19/60) sont des gènes impliqués dans des voies de signalisation majeures de la gastrulation (voie BMP4, FGF, SHH, TGFb, Wnt …). Ces résultats sont donc en accord avec notre hypothèse initiale : les DFTN isolés liés à une carence en acide folique maternelle s'accompagneraient d'une hypométhylation de nombreux gènes du développement. Les DFTN pourraient donc constituer un modèle de pathologie épigénétique du développement, mettant en jeu des mécanismes génétiques et environnementaux concourant à la perturbation de la mise en place de la reméthylation du génome embryonnaire.

POSTER

7. Développement et foetopathologie

P596 - SYNDROME DE KABUKI CHEZ UN PATIENT MAROCAIN ET REVUE DE LA LITTERATURE

N Fejjal (1), I Ratbi (2), I Elhammi (1), M Mansouri (3), A Sefiani (2)

1. Service de chirurgie plastique pédiatrique, centre des brûlés, Hopital d'enfants, CHU ibn sina, rabat, Maroc
2. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, rabat, Maroc
3. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, rabat, Maroc

Le syndrome de Kabuki (MIM≠147920) dit « Kabuki make-up », est un rare syndrome génétique, initialement décrit chez des patients japonais, puis d'autres cas ont été rapportés dans d'autres groupes éthniques. Il est caractérisé par un retard de croissance postnatal, un retard mental léger et une dysmorphie faciale particulière faite d'une éversion de la paupière inférieure, de longues fentes palpébrales, des sourcils en arcs, de longs cils, des sclérotiques bleues, une pointe du nez aplatie, une fente labiale et/ou palatine, des oreilles proéminentes avec fistules préauriculaires, et des anomalies dentaires. Des malformations cardiaques à type de coartation aortique, d'anomalies du septum auriculaire ou ventriculaire peuvent être retrouvées. Des anomalies squelettiques non spécifiques à type de 5èmes doigts courts et clinodactylies, scoliose, luxations de hanche ou de rotule peuvent exister. De nombreuses autres anomalies inconstantes ont été associées également à ce syndrome: une hypotonie musculaire, une sensibilité aux infections, une épilepsie, une microcéphalie, des anomalies visuelles, une surdité de perception, et des anomalies urogénitales. Le mode de transmission est autosomique dominant, et la plupart des cas sont sporadiques. Récemment, des mutations du gène MLL2 en 12q13.12 ont été associées au syndrome de Kabuki (Ng et al. 2010). Nous rapportons l'observation d'un jeune patient marocain âgé de 2 ans et demi, consanguin 1er degré, ainé d'une fratrie de 2, sans histoire familiale particulière. Il est né à terme par césarienne pour travail prolongé avec des mensurations normales. Il présente une hypotonie musculaire, marquée au niveau du visage, un retard psychomoteur et une dysmorphie faciale typique du syndrome de Kabuki. Il a également une fente vélaire programmée pour cure chirurgicale et une sensibilité aux infections. L'étude moléculaire du gène MLL2 est en cours. Nous faisons le point à travers ce cas sur les aspects cliniques et génétiques de ce rare syndrome.

POSTER
7. Développement et foetopathologie

P597 - ETUDE EN ANALYSE CHROMOSOMIQUE SUR PUCES A ADN DE 70 FŒTUS PORTEURS DE MALFORMATIONS CEREBRALES SYNDROMIQUES.

E ALIX (1), AL DELEZOIDE (2), J MICHEL (1), J MARTINOVIC-BOURIEL (3), A LABALME (4), M GONZALES (5), C ABEL (6), F ALLIAS (7), C ANTAL (8), N BIGI (9), P BLANCHET (10), D BOGGIO (11), R BOUVIER (12), A BUENERD (12), MP CORDIER (13), C COUBES (10), K DIETERICH (14), F DIJOUD (12), S FRACHON-COLLARDEAU (15), B GILBERT DUSSARDIER (16), L GUIBAUD (17), F GUIMIOT (18), PS JOUK (14), F LEBRETON (19), J MASSARDIER (20), C MECHLER (21), F PELLUARD (22), MJ PEREZ (23), L PINSON (9), A VICHIER-CERF (11), A VASILJEVIC (24), T ATTIE-BITACH (25), F ENCHA-RAZAVI (26), D SANLAVILLE (1)
1. service de cytogénétique constitutionnelle, centre de biologie Est, LYON BRON, France
2. service de biologie du développement, hopital Robert Debré, PARIS, France
3. unité de foetopathologie, laboratoire CERBA, CERGY, France
4. service de Cytogénétique Constitutionnelle, centre de biologie Est, LYON BRON, France
5. unité de pathologie foetale et placentaire, hopital TROUSSEAU, PARIS, France
6. service de génétique, hopital de la croix rousse, LYON, France
7. centre de pathologie nord, hopital de la croix rousse, LYON, France
8. unité de pathologie foetale et placentaire, hopital Trousseau, PARIS, France
9. service de génétique médicale, hopital arnaud de Villeneuve, MONTPELLIER, France
10. service de génétique clinique, hopital arnaud de Villeneuve, MONTPELLIER, France
11. service de génétique, CHLS, LYON, France
12. centre de pathologie Est, CBPE, LYON BRON, France
13. service de génétique, HFME, LYON BRON, France
14. département de génétique, CHU, GRENOBLE, France
15. service de pathologie Est, CBPE, LYON BRON, France
16. service de génétique clinique, CHU, POITIERS, France
17. service d'imagerie pédiatrique et foetale, HFME, LYON BRON, France
18. service de biologie du développement, hopital Robert debré, PARIS, France
19. centre de pathologie Nord, hopital de la croix rousse, LYON BRON, France
20. service de gynécologie obstétrique, HFME, LYON BRON, France
21. sercice d'anatomie et de cytologie pathologique, hopital louis mourier, COLOMBES, France
22. service d'anatomopathologie, groupe hospitalier pellegrin, BORDEAUX, France
23. service de génétique médicale, hopital arnaud de villeneuve, MONTPELLIER, France
24. centre de pathologie est, CBPE, LYON BRON, France
25. service d'histoembryologie et de cytogénétique, hopital Necker, PARIS, France
26. servie d'histoembryologie et de cytogénétique, hopital Necker, PARIS, France

Les malformations congénitales touchent environ 2,5 % des naissances vivantes. Elles constituent un ensemble hétérogène et la majorité (60%) sont de nature sporadique sans explication. Parmi ces malformations, les anomalies cérébrales sont au premier plan. Ces dernières années, l'amélioration du dépistage prénatal des malformations cérébrales a conduit fréquemment à une interruption médicale de grossesse. L'examen foetopathologique retrouve, dans environ 50 % des cas, une dysmorphie craniofaciale ou d'autres malformations associées. Dans ce contexte, un certain nombre d'étiologies (infectieuse, toxique, vasculaire ou encore génétique) sont évoquées mais aucune explication ne peut être proposée pour 50 % des cas.
Récemment, un nombre croissant de malformations congénitales a été identifié comme résultant d'un désordre génomique grâce à l'utilisation des nouvelles techniques d'analyse globale du génome. Nous avons débuté une étude visant à mettre en évidence des CNVs (Copy Number Variation) au sein d'une cohorte de 100 fœtus porteurs, dans un cadre syndromique, de malformations cérébrales réparties en 4 groupes (défaut de fermeture du tube neural, hypoplasie du cervelet, anomalie de commissurations ou microcéphalie). L'objectif est d'identifier de nouveaux gènes potentiellement impliqués dans le développement cérébral et ces malformations. Pour cette étude, les ADN ont été extraits de tissus fœtaux, et une Analyse Chromosomique sur puces à ADN a été réalisée sur des puces 180 K de la société Agilent.
A l'heure actuelle, 70 % des cas prévus ont été inclus grâce à la participation de différents services de foetopathologie, de cytogénétique et de biobanques (Lyon, Paris, Montpellier, Grenoble, Saint Etienne, Clermont-Ferrand, Rennes, …) ainsi que grâce à la collaboration de la

Société Française de Foetopathologie (SOFFOET). Les ¾ des fœtus sont en cours d'étude. Le caractère hérité ou de novo est vérifié soit par FISH, soit par qPCR pour tous les CNVs observés et non répertoriés dans les bases de données des polymorphismes (DGV). Les premiers résultats ont mis en évidence plusieurs CNVs pathogènes. Chez deux foetus, une délétion de novo comportant un gène déjà impliqué chez des patients avec des malformations cérébrales a été identifiée : une délétion 1p32.2p31.3 de 11 Mb de novo comprenant le gène NF1A chez un fœtus présentant une agénésie calleuse et une délétion 16p13.11, de novo, d'environ 1,13 Mb comportant le gène NDE1 chez un fœtus présentant une microcéphalie. D'autres anomalies chromosomiques de novo d'interprétation plus difficile ont été mises en évidence. Plusieurs autres CNVs sont en cours de vérifications.
Cette étude nous a d'ores et déjà permis de confirmer l'implication de certains gènes dans les malformations cérébrales. Nous présenterons ici nos résultats et discuterons les nouveaux CNVs mis en évidence.

POSTER

7. Développement et foetopathologie

P598 - NOUVEAU CAS DU SYNDROME DE JOHNSON-MCMILLIN CHEZ UNE PATIENTE MAROCAINE

I Ratbi (1), A Elayoubi (2), N Fejjal (3), M Mansouri (4), S Chafai Elalaoui (5), A Sefiani (1)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, rabat, Maroc
2. Service d'Oto-Rhino-laryngologie, Hôpital des Spécialités, CHU Ibn Sina, rabat, Maroc
3. Service de chirurgie plastique pédiatrique, centre des brûlés, Hopital d'enfants, CHU ibn sina, rabat, Maroc
4. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, rabat, Maroc
5. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, rabat, Maroc

Le syndrome de Johnson-McMIllin a été décrit pour la 1ère fois en 1983 par Johnson et al. chez 16 individus apparentés répartis sur 3 générations. Le tableau clinique comprenait une alopécie, une anosmie ou hyposmie, une surdité, une microtie et/ou atrésie du canal auditif externe et un hypogonadisme hypogonadotrophique. D'autres signes inconstants comme une prédisposition aux caries dentaires, une asymétrie faciale, un retard mental, une cardiopathie, une fente palatine et une imperforation des choanes étaient également retrouvés. Johnson et al. avaient alors suggéré une origine neuroectodrrmique à ce nouveau syndrome et un mode de trnasmission autosomique dominant avec une expression variable. En 1987, ils ont décrit un nouveau patient qui avait en plus des taches café au lait. Hennekam et Holtus ont rapporté en 1993 un nouveau cas du syndrome de Johnson-McMillen chez une mère et son fils. Quelques rares cas ont été ensuite rapportés dans la littérature. L'anomalie génétique sous-jacente est encore inconnue.

Nous décrivons un nouveau cas du syndrome de Johnson-McMillin chez une enfant marocaine, âgée de 4 ans et demi, non consanguine et 2ème d'une fratrie de deux. Elle présentait en particulier une alopécie localisée, une sécheresse cutanée, une dysplasie de l'oreille gauche avec une surdité neurosensorielle bilatérale, des taches café au lait et des caries dentaires. Nous comparons les signes cliniques de notre patiente avec ceux précédemment rapportés dans la littérature et faisons le point sur ce rare syndrome.

POSTER

7. Développement et foetopathologie

P599 - FORME FAMILIALE DU SYNDROME DE SIMPSON-GOLABI-BEHMEL LIEE A LA MUTATION C.1666G>A (P.GLY556ARG) DU GENE GPC3

I Ratbi (1), Y Doubaj (2), S Chafai Elalaoui (3), F Gurrieri (4), A Sefiani (1)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, rabat, Maroc
2. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, rabat, Maroc
3. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, rabat, Maroc
4. Servizio di genetica medica, Instituto di genetica medica, facolta di mMedicina e chirurgia "Agostino Gemelli", universita Cattolica delSacro cuore, Rome, Italie

Le syndrome de Simpson-Golabi-Behmel (SGBS) se caractérise par une avance de croissance globale pré et post-natale, une dysmorphie faciale, et des malformations viscérales et squelettiques. Plus d'une centaine de cas ont été rapportés à ce jour. Le SGBS est de transmission récessive lié à l'X. Différents mutations des gènes GPC3 et GPC4 en Xq26 ont été décrites chez des patients atteints de SGBS. Nous rapportons l'observation d'un nourrisson de 18 mois de sexe masculin, consanguin (1er degré), né par voie basse au terme d'une grossesse non suivie. A l'examen, il avait des mensurations normales, une hypotonie et un retard des acquisitions psychomotrices. Son faciès était épais, et il avait également des seins surnuméraires, une polydactylie post-axiale droite et une cryptorchidie bilatérale. Son bilan malformatif a retrouvé une communication interventriculaire périmembraneuse avec une sténose sous-valvulaire aortique minime et une insuffisance mitrale modérée à l'échocardiographie. L'échographie pelvienne et l'urographie intraveineuse ont montré deux méga-uretères doubles bifides avec une dilatation des cavités pyélocalicielles. Ses parents ont rapporté qu'ils avaient déjà perdu un nouveau-né de sexe masculin à J1, et qui avait aussi le même aspect épais et la polydactylie. Devant ce tableau clinique, le premier diagnostic que nous avons évoqué était le SGBS. L'étude moléculaire du gène GPC3 a montré que le patient est porteur à l'état hémizygote de la mutation c.1666G>A (p.Gly556Arg). La même mutation a été retrouvée chez sa mère à l'état hétérozygote. Nous refaisons le point à travers ce cas sur les nouveautés cliniques et génétiques de ce rare syndrome.

POSTER
7. Développement et foetopathologie

P600 - SYNDROME DE STÜVE-WIEDEMANN : PRESENTATION FŒTALE A PROPOS D'UN CAS LIE A DES MUTATIONS A L'ETAT HETEROZYGOTE COMPOSITE DU GENE LIFR.

A DIEUX (1), AS VALAT (2), S PETIT (3), AS LEBRE (4), V CORMIER (4), S MANOUVRIER-HANU (1)
1. Clinique de Génétique "Guy Fontaine", Hôpital Jeanne de Flandre, LILLE, France
2. Gynécologie Obstétrique, CH de Lens, LENS, France
3. Service d'anatomie-pathologique, CHRU, LILLE, France
4. Département de Génétique, Hopital Necker-Enfants Malades, PARIS, France

Le syndrome de Stüve-Wiedemann (SWS) est une chondrodysplasie sévère et rare de transmission autosomique récessive, caractérisée par une incurvation des os longs des membres inférieurs avec épaississement de la corticale interne, élargissement métaphysaire et anomalies de la trame osseuse, associés à une camptodactylie, des symptômes de dysautonomie, une détresse respiratoire et des troubles de succion-déglutition conduisant à une issue fatale fréquente dans les 1ères années de vie. Hétérogène sur le plan génétique, il est lié dans la majorité des cas à des mutations du gène LIFR (leukemia inhibitory factor receptor).

En anténatal, le SWS est une des étiologies à évoquer suite à un diagnostic échographique de brièveté modérée des os longs des membres avec incurvation fémorale, surtout lorsqu'y sont associés une incurvation tibiale parfois plus marquée, une camptodactylie et un oligoamnios. Peu d'observations prénatales sont rapportées dans la littérature (une quinzaine).

Nous décrivons le phénotype anténatal du SWS à partir de l'observation d'un fœtus de 31 SA, issu d'un couple non consanguin d'origine franco-espagnole, dont la grossesse a été interrompue suite au diagnostic anténatal de brièveté des os longs avec incurvation fémorale et tibiale à partir de 25 SA, et pour lequel le diagnostic a été confirmé par les radiographies post-natales et la mise en évidence de 2 mutations à l'état hétérozygote composite du gène LIFR.

POSTER
7. Développement et foetopathologie

P601 - DIAGNOSTIC PRENATAL D'UNE TRISOMIE 15 EN MOSAÏQUE : APPORT DES PUCES OLIGONUCLEOTIDIQUES SNP DANS LA DETERMINATION DU MECANISME DE FORMATION

S Chantot-Bastaraud (1), B Keren (2), C Hyon (1), N Joyé (1), R Grigorescu (1), C Jacquet (1), C Soleyan (1), N Berkane (3), F Richard (3), JP Siffroi (4), MF Portnoï (1)
1. Service de Génétique et Embryologie Médicales, (1) Hôpital Armand Trousseau, PARIS, France
2. Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, (2) GH Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Tenon, PARIS, France
4. Génétique et Embryologie Madiclaes, (1) Hôpital Armand Trousseau, PARIS, France

Le diagnostic prénatal d'une trisomie 15 est rare. Cette anomalie est retrouvée dans environ 2% des avortements spontanés du premier trimestre et représente 7 % des trisomies létales. La naissance d'enfant vivant avec une trisomie 15 homogène a été exceptionnellement rapportée et de rares cas d' enfants avec des trisomies 15 en mosaïque ont été également décrits.
Le phénotype est hétérogène et associe de façon variable dysmorphie faciale, malformations cardiaques (CAV, Hypoplasie du ventricule droit) et rénale (duplication rénale) , hypoplasie pulmonaire et malrotation intestinale. 50% des trisomies 15 en mosaïque identifiés lors d'un diagnostic prénatal dériveraient d'un accident meïotique dont la correction peut en théorie conduire à une disomie uniparentale du 15 dans 1/3 des cas.
Nous rapportons un diagnostic prénatal de trisomie 15 en mosaïque, découverte sur l'amniocentèse réalisée à 23 SA devant l'association d'un retard de croissance intra-uterin et d'une malformation cardiaque complexe (canal atrio-ventriculaire et ventricule droit à double issue) chez un foetus de sexe apparemment féminin. Le caryotype foetal masculin avec une trisomie 15 en mosaïque dans 3 des 19 cellules analysées et dans 10% des noyaux étudiés en FISH motive l'interruption médicale de grossesse à 26 SA. L'examen foeto-placentaire confirme l' ambiguïté sexuelle (OGE indeterminés avec un tubercule génital de 4mm sans orifice et 2 replis latéraux), le retard de croissance intra-utérin de 1 à 2 SA, la malformation cardiaque. Une dysmorphie cranio faciale associant hypertélorisme, rétrognatisme et cou court est notée .L'analyse histologique montre des gonades masculines avec hyperplasie des cellules de Leydig. Une étude en FISH sur 100 noyaux des cellules de la culture de la rate et du poumon foetaux revèle des taux de mosaïcisme respectivement de 20% et 30% confirmant la présence de cette trisomie dans les différents tissus foetaux à des taux supérieurs à celui observé dans le liquide amniotique. En revanche, seules 16 cellules hépatiques ont pu être analysées et présentaient un caryotype masculin normal 46,XY.
L'étude cytogénétique de cette trisomie 15 en mosaïque a été complétée par une analyse moléculaire en SNP array (CytoSNP12, Illumina®)de l'ADN extrait de la culture des cellules pulmonaires. Le résultat a permis de déterminer la survenue en méiose I, après recombinaison, de la malségrégation du chromosome 15 et d'établir plus précisément le taux de mosaïque .

POSTER
7. Développement et foetopathologie

P602 - HETEROTOPIE NODULAIRE, ANOMALIES VERTEBRALES, AGENESIE UNILATERALE DU MEMBRE SUPERIEUR, REIN EN FER A CHEVAL ET RETARD MENTAL. UN NOUVEAU SYNDROME ?

M Chaabouni (1), H Mrabet-Khiari (2), F Maazoul (1), V Malan (3), A Mrabet (2), H Bouhamed-Chaabouni (1)
1. Service des maladies héréditaires et congénitales, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
2. Service de Neurologie, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
3. Service de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France

Nous rapportons l'observation d'un patient de sexe masculin âgé de 28 ans né de parents apparentés (f=1/32) et présentant une association d'anomalies du développement.
L'examen physique retrouve une agénésie totale de l'épaule droite, du bras et de l'avant bras droits avec seulement un moignon comportant quelques doigts au niveau de l'aisselle droite. Par ailleurs, il présente une hypotrophie testiculaire droite. Une dysmorphie faciale est notée également avec un front étroit, un synophris, une obliquité antimongoloïdes des fentes palpébrales, un palais étroit et profond, un philtrum court et une mauvaise implantation dentaire. Le retard mental chez ce patient est évalué à modéré (QI=70) et le langage est normal. A l'âge de 18 ans, il a commencé à présenter des crises d'épilepsie généralisée.
A l'IRM cérébrale on retrouve un sous type particulier d'hétérotopie nodulaire appelée « hétérotopie en bandes » et à l'IRM médullaire une syringomyélie au niveau de la moelle cervicale. La radiographie du squelette montre une fusion des vertèbres cervicales (C2-C3 et C6-C7), une déminéralisation des os du carpe, des métacarpes et une scoliose dorsale droite.
Les explorations cytogénétiques chez ce patient n'ont pas révélé d'anomalies particulières. En effet, le caryotype en bandes R est normal et la CGH array à une résolution de 60Kb ne montre aucun déséquilibre génomique.
Les anomalies retrouvées chez ce patient sont des anomalies du développement dont l'association n'a pas été décrite auparavant dans la littérature et à notre connaissance. L'hétérotopie nodulaire a été décrite en association avec des anomalies transversales des membres mais pas avec des anomalies rénales et/ou vertébrales. Par ailleurs, les entités cliniques comportant des anomalies sévères des membres tels que les syndromes d'Al-Awadi, la phocomélie de Schinzel et le syndrome de Baller-Gerold sont considérées comme différentes de notre observation car ne comportent pas d'anomalies cérébrales et cervicales.
Au vu de ce qui est rapporté dans la littérature à ce jour, nous pouvons considérer que cette association constitue un nouveau syndrome. Le mode de transmission autosomique récessif n'est pas exclu devant les parents apparentés de notre patient.

POSTER

7. Développement et foetopathologie

P603 - DE L'INTERET D'UN EXAMEN CLINIQUE ET RADIOLOGIQUE ATTENTIF : DIAGNOSTIC D'UN SYNDROME DE FRASER ASSOCIE A UN SYNDROME 3M CHEZ UN FŒTUS.

N Bigi (1), P Blanchet (1), V Cormier-Daire (2), A Couture (3), I Creveaux (4), JM Faure (5), D Geneviève (1), AS Lebre (6), C Nachury (4), MJ Perez (1), P Sarda (1)

1. Département de Génétique Médicale, Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Département Génétique, Necker Enfants Malades, Paris, France
3. Département Imagerie Pédiatrique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
4. UFR Médecine,Biologie Moléculaire, CHU, Clermont Ferrand, France
5. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
6. Département de Génétique, Hopital Necker Enfants Malades, Paris, France

Il s'agit d'une deuxième grossesse chez un couple de parents apparentés originaires d'Algérie dont le premier enfant, une fille, présente un retard de croissance à début prénatal sans retard psychomoteur (taille de naissance 38,5 cm, taille à - 3,5 DS à 14. mois), en cours d'exploration génétique lors de la seconde grossesse.

L'échographie du deuxième trimestre met en évidence un raccourcissement des os longs (fémur et humérus est inférieur à 3ème percentile), un anamnios et une association malformative (agénésie rénale unilatérale, hyperplasie pulmonaire bilatérale et absence de cristallin) chez un foetus dont le caryotype sur sang fœtal est 46 XX.

L'interruption de la grossesse demandée par les parents et acceptée par le centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal est réalisée à 25SA.

L'examen fœtal externe, complété par un examen échographique post mortem en raison d'un refus d'autopsie parental, met en évidence 5 critères majeurs diagnostic du syndrome de Fraser : cryptophtalmie, syndactylie des doigts et des orteils, organes génitaux externes indifférenciés, agénésie rénale droite associée à un rein gauche multikystique et atrésie laryngée

Les biométries fœtales confirment le retard de croissance, symptôme peu habituel dans le syndrome de Fraser. La radiographie du squelette montre un raccourcissement des os longs (fémur, humérus, tibia : biométries 18-19SA pour 25SA théoriques) et un retard de maturation osseuse (absence des points pubiens et calcanéens). Une pathologie osseuse constitutionnelle associée au syndrome de Fraser est alors suspectée.

L'étude moléculaire du gène FRAS1met en évidence une mutation à l'état homozygote (4032dupG (p.Met1345AspfsX19 dans l'exon 30).

Le diagnostic chez le premier enfant de syndrome 3 M, de transmission autosomique récessive nous fait évoquer une récurrence qui sera confirmée par la mise en évidence d'une mutation à l'état homozygote du gène CUL 7 (c. 4186C>T, p.Arg1396X dans l'exon 22) chez le premier enfant et le fœtus.

Le diagnostic prénatal échographique du syndrome de Fraser est possible, rapporté pour le syndrome 3M avec cas index dans la fratrie.

La confirmation moléculaire permet d'envisager pour ce couple de proposer soit un diagnostic génétique précoce sur biopsie de trophoblaste soit un diagnostic préimplantatoire pour les grossesses ultérieures.

Mots clés: examen fœto placentaire,Fraser,3M,FRAS1,CUL7

POSTER
7. Développement et foetopathologie

P604 - INTERET DE L'EXAMEN FŒTOPATHOLOGIQUE DANS LE DIAGNOSTIC ET LA COMPREHENSION DES MALFORMATIONS CEREBRALES ISOLEES EN ANTENATAL, A PROPOS D'UNE SERIE DE 295 CAS.

H FRANQUET-ANSART (1), S JORIOT (2), V HOUFFLIN (3), MC COPIN (1), L VALLEE (2), G SOTO ARES (4), S MANOUVRIER (5), L DEVISME (1)
1. Institut de Pathologie, CHRU, LILLE, France
2. Service de Neuropédiatrie, CHRU, LILLE, France
3. Diagnostic Prénatal, CHRU, LILLE, France
4. Service de Neuroradiologie, CHRU, LILLE, France
5. Service de Génétique Clinique, CHRU, LILLE, France

L'essor du diagnostic prénatal et les performances de l'imagerie cérébrale prénatale ont permis l'émergence de la neuropathologie fœtale. Notre étude a pour but d'évaluer l'intérêt de l'examen fœtopathologique, incluant l'analyse neuropathologique, dans le diagnostic étiologique des malformations cérébrales isolées en période anténatale.

Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur 295 interruptions médicales de grossesse réalisées pour malformation cérébrale, dépistée et isolée à l'échographie anténatale et/ou à l'IRM fœtale, en excluant les anomalies de fermeture du tube neural. A l'issue de l'examen fœtopathologique complet, des techniques de biologie moléculaire et du conseil génétique, nous avons comparé les résultats obtenus en post natal aux données du diagnostic anténatal. Nous les avons regroupés par signe d'appel échographique et en fonction de l'apport de l'examen fœtopathologique.

Au total, dans 32% des cas, le diagnostic évoqué en prénatal était confirmé en postnatal. Dans 9% des cas, l'examen neuropathologique mettait en évidence des arguments étiologiques, permettant d'étayer le diagnostic initial. Dans 59% des cas, l'examen fœtopathologique apportait des informations supplémentaires, non vues en anténatal et modifiant le diagnostic suspecté. Il permettait alors de conclure à une pathologie connue dans 39% des cas. Des malformations externes ou viscérales étaient découvertes à l'examen foetopathologique dans 20% des cas. Les syndromes polymalformatifs non identifiés représentaient 9% des observations. 11% des dossiers correspondaient à des malformations cérébrales complexes n'entrant pas dans un cadre nosologique connu. Pour les syndromes d'origine génique, le taux de mutations, recherchées en fonction du diagnostic fœtopathologique, était élevé (83 à 90% selon les pathologies).

Nos résultats démontrent l'importance de la prise en charge multidisciplinaire et de l'examen fœtopathologique pour le diagnostic des malformations cérébrales fœtales. Nous avons ainsi constaté qu'une même entité pathologique pouvait être révélée par des signes d'appel échographiques différents. L'examen morphologique détaillé du fœtus, incluant le cerveau, est indispensable au conseil génétique. Il permet notamment l'orientation très précise des examens complémentaires, telles que les analyses génétiques, longues et coûteuses. A l'avenir, les progrès de la biologie moléculaire devraient permettre d'arriver à un diagnostic précis dans un plus grand nombre d'observations.

POSTER
7. Développement et foetopathologie

P605 - PHENOTYPE DE 74 FOETUS PRESENTANT UNE DELETION 22Q11./SEVENTY-FOUR FETAL PHENOTYPES WITH 22Q11 DELETION.

AC Noel (1), F Pelluard (2), AL Delezoide (3), L Devisme (4), L Loeuillet (5), B Leroy (5), A Martin (6), R Bouvier (7), A Laquerrière (8), C Jeanne-Pasquier (9), E Alanio (10), B Bessières-Grattagliano (11), C Mechler (12), D Gaillard (10)
1. Service de génétique, HMB, CHU-Reims, Reims, France
2. unité de pathologie foeto-placentaire, CHU-Bordeaux, Bordeaux, France
3. Biologie du développement, Hopital Robert Debré, Paris, France
4. Pôle de pathologie, unité de foetopathologie, CHRU-Lille, Lille, France
5. Anatomie et cytologie pathologique, CHI-Poissy-St-Germain-en-Laye, Poissy, France
6. gynécologie, CHU-Besançon, Besançon, France
7. Centre de pathologie et neuropathologie Est, Groupement hospitalier Est Lyon Bron, Lyon, France
8. Anatomie et pathologie, Centre hospitalier de Rouen, Rouen, France
9. Anatomopathologie, CHU-Caen-côte-de-Nacre, Caen, France
10. Génétique, HMB, CHU-Reims, Reims, France
11. Anatomo-foeto-pathologie, Institut de puériculture et de périnatologie de Paris, Paris, France
12. Anatomie et cytologie pathologique, CHU Louis Mourier, Colombes, France

Objectifs : La délétion 22q11.2 est à l'origine d'un des plus fréquents syndromes malformatifs microdélétionnels, connu pour son large spectre phénotypique, allant du syndrome de DiGeorge néonatal à la simple insuffisance vélaire. Le phénotype fœtal associé à cette délétion est peu décrit dans la littérature.
Patients et méthodes : Une étude rétrospective a été réalisée à partir d'une série de 74 fœtus ayant fait l'objet d'un examen fœtopathologique après interruption médicale (66 cas) ou mort in utero, afin de préciser les circonstances de diagnostic et les anomalies fœtales. La série comprenait 9 fœtus du 1er trimestre, 55 du 2ème et 10 du 3ème trimestre. La recherche de la délétion avait été prescrite dans le cadre du diagnostic prénatal dans 57 cas et par le fœtopathologiste pour 17 fœtus.
Résultats : La dysmorphie faciale comprenait une racine du nez large (74%), un rétrognathisme (57%), des malformations des oreilles (50%), mais la microstomie était plus rare (39%) et seulement 4 fentes labiopalatines et 2 anomalies de la luette ont été rapportées. Ces fœtus avaient cou large et/ou court dans un tiers des cas, sans relation significative avec la largeur de la clarté nucale. Une cardiopathie était présente dans 92% des cas et souvent associée à une agénésie ou hypoplasie thymique (86%) non dépistée à l'échographie. La cardiopathie cono-troncale la plus fréquente était le tronc artériel commun (19), suivi par la tétralogie de Fallot (13), l'atrésie pulmonaire avec communication interventriculaire (9), l'interruption de l'arche aortique (7), la coarctation (7) et ces malformations étaient associées à d'autres anomalies vasculaires dans 37/68 cas. Un tiers des fœtus présentait des anomalies urinaires. Dix fœtus avaient des anomalies neurologiques inhabituelles dont 5 arhinencéphalies et 7 anomalies du tube neural. Neuf fœtus avaient des anomalies costovertébrales, 7 des anomalies des voies respiratoires supérieures ou digestives sévères et 5 des anomalies génitales. Le conseil génétique n'a été donné que pour 26 familles, la délétion étant de novo pour 19 fœtus et héritée de la mère pour 7 cas.
Conclusions : L'association cardiopathie cono-troncale et agénésie/hypoplasie thymique reste fortement évocatrice, mais difficile à dépister par échographie. Cette étude a mis en évidence des anomalies inhabituelles qui, associées à une cardiopathie et/ou une anomalie thymique, doivent faire penser à demander un caryotype fœtal avec une hybridation en 22q11. Certaines anomalies comme les troubles de l'olfaction, une fossette sacro-coccygienne devraient entrer dans l'examen systématique en pédiatrie. Le conseil génétique semble encore trop souvent négligé, alors qu'il reste primordial pour aborder la conduite à tenir des autres grossesses.

POSTER
7. Développement et foetopathologie

P606 - EVALUATION DE L'IMPLICATION DU GENE MEF2C DANS L'ETIOLOGIE MOLECULAIRE DU SYNDROME DE RETT.
MEF2C MUTATION SCREENING IN RETT SYNDROME PATIENTS.

L Lambert (1), T Bienvenu (2), L Allou (3), B Echenne (4), B Dielbold (5), C Mignot (6), D Héron (6), V Roth (7), A Saunier (7), A Moustaïne (7), P Jonveaux (8), C Philippe (9)
1. EA 4368 Déficiences mentales et anomalies de structure du génome; UF Génétique Clinique, Médecine Néonatale; Médecine Infantile 3 et Génétique Clinique, Université de Lorraine; Maternité Régionale et Universitaire; Centre Hospitalier Régional et Universitaire, Nancy, France
2. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire; Inserm U1016, AP-HP, Cochin Hospital ; Université Paris Descartes, Paris, France
3. EA 4368, Déficiences mentales et anomalies de structure du génome, Université de Lorraine, Faculté de Médecine, Vandoeuvre-les-Nancy, France
4. Service de Neuropediatrie, Centre Hospitalier et Universitaire, Montpellier, France
5. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, AP-HP, Hôpital Broca Cochin Hôtel Dieu, Paris, France
6. Département de Génétique, Groupe Pitié-Salpétrière, Paris, France
7. Laboratoire de génétique médicale, Centre Hospitalier Régional et Universitaire, Vandoeuvre-les-Nancy, France
8. EA 4368, Déficiences mentales et anomalies de structure du génome ; Laboratoire de génétique médicale, Université de Lorraine; Centre Hospitalier Régional et Universitaire, Vandoeuvre-les-Nancy, France
9. EA 4368, Déficiences mentales et anomalies de structure du génome; Laboratoire de génétique médicale, Université de Lorraine; Centre Hospitalier Régional et Universitaire, Vandoeuvre-les-Nancy, France

Le syndrome de Rett (RTT) est une encéphalopathie progressive d'origine génétique hétérogène, comprenant différentes formes cliniques individualisées. Les gènes impliqués dans cette pathologie sont MECP2, CDKL5 et plus récemment FOXG1. Néanmoins, les parents de nombreuses patientes avec un syndrome de Rett typique ou variant attendent toujours l'identification de la cause moléculaire de l'encéphalopathie chez leur enfant. Des mutations dans le gène MEF2C (Myocyte Enhancer Factor 2 C) sont responsables de déficiences intellectuelles sévères avec épilepsie, mouvements stéréotypés et anomalies cérébrales variables. Certains patients présentent des signes cliniques pouvant faire évoquer une forme sévères de RTT (Le Meur et al, 2010, J Me Genet 47 : 22-29 ; Zweir et al, 2010 Hum Mut 31 : 722733). Le but de cette étude était d'évaluer l'implication de MEF2C dans l'étiologie du RTT dans ses formes typique et variantes. Pour ce faire nous avons criblé ce gène dans une cohorte très importante de 377 individus (151 à Cochin, 226 à Nancy) chez lesquels aucune anomalie n'avait pu être identifiée dans les gènes MECP2/CDKL5/FOXG1. Nous avons inclus dans cette étude toutes les formes cliniques de syndrome de Rett, parfois Angelman-like (166). Nous avons également étudié des enfants avec des encéphalopathies épileptiques (86) y compris néonatales, des spasmes infantiles (44) ou une déficience intellectuelle sévère (26). Les patients étudiés avaient pour la plupart déjà bénéficié d'analyses génétiques orientées par la clinique : étude des autres gènes impliqués dans le syndrome de Rett (CDKL5, FOXG1), étude de la région PW/AS, voire CGHa. Dans notre étude, la stratégie de recherche de mutation comprenait un séquençage de la région codante et des jonctions intron-exon de MEF2C (après un pré-criblage par DHPLC pour les patients analysés à Cochin) ainsi qu'une analyse quantitative par qPCR (exon 6 à Cochin, exons 3 et 9 à Nancy). Aucune mutation ponctuelle délétère n'a été identifiée dans MEF2C. Nous avons détecté 8 polymorphismes introniques hérités dont un seul était décrit dans dbSNP (rs3729667). L'analyse quantitative a permis d'identifier une délétion partielle de MEF2C emportant les exons 4a à 11 chez un patient porteur d'une encéphalopathie épileptique précoce.
Le gène MEF2C ne semble donc pas jouer un rôle important dans la pathogenèse du RTT dans ses formes typique et variantes, la recherche de mutations ponctuelles n'est donc pas indiquée chez les enfants avec une pathologie Rett ou Rett-like. La recherche de grands réarrangements de MEF2C par approche quantitative semble être indiquée uniquement dans le cas du variant Hanefeld avec épilepsie sévère précoce ou pour des formes congénitales sans microcéphalie.
Mots-clé : MEF2C, syndrome de Rett, CNV.

POSTER
7. Développement et foetopathologie

P607 - IMPORTANCE DE L'EXAMEN FOETOPATHOLOGIQUE DANS LE DIAGNOSTIC ETIOLOGIQUE D'UNE ANOMALIE DU RAYON RADIAL, A PROPOS DE 19 CAS.

L Loeuillet (1), B Leroy (1), C Thuillier (2), P Bouhanna (2), JP Bault (2), F Jacquemard (2), M Moulis (2), C Oheix (3), MF Portnoï (4), E Rouleau (5), J Soulier (6), D Stoppa – Lyonnet (7), F Vialard (8), J Roume (3)
1. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHI Poissy/St Germain-en-Laye, Poissy, France
2. Service de Gynécologie-Obstétrique et CPDPN de Poissy, CHI Poissy/St Germain-en-Laye, Poissy, France
3. Cytogénétique et Génétique Médicale, CHI Poissy/St Germain-en-Laye, Poissy, France
4. Service de Génétique, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
5. Plateforme de CGH-array, Centre René Huguenin, St Cloud, France
6. Laboratoire d'hématologie, Hôpital St Louis, Paris, France
7. Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France
8. c, CHI Poissy/St Germain-en-Laye, Poissy, France

L'anomalie du rayon radial peut être uni- ou bilatérale, et survenir de façon isolée ou associée à d'autres malformations. Souvent dépistée très précocément en anténatal, elle peut néanmoins passer "inaperçue", surtout lorsqu'elle est associée à d'autres anomalies viscérales. De plus, l'hétérogénéité clinique de cette anomalie s'accompagne d'une hétérogénéité étiologique et génétique.
L'étude de 19 cas d'anomalies du rayon radial (17 familles), sans aneuploïdie, au cours de ces dix dernières années, montre les difficultés du diagnostic anténatal de cette anomalie, la nécessité d'investigations cliniques et biologiques et l'intérêt de l'examen foetopathologique (EFP).
Dans 11 cas, l'anomalie du rayon radial a été dépistée en anténatal, majoritairement au 1er trimestre (9 fois/11). Elle a été considérée comme isolée 9 fois. L'EFP a rectifié le caractère isolé pour 2 cas, en aboutissant au diagnostic d'association malformative type « VATER ». Il a apporté des informations complémentaires utiles au diagnostic pour 3 autres cas.
Pour 8 cas, c'est l'EFP qui a fait le diagnostic d'anomalie du rayon radial et a conduit à réévaluer le diagnostic initial 5 fois.
Dans les cas de suspicion de maladie de Fanconi (7 cas), le caryotype anténatal a été complété par une ponction de sang fœtal (PSF) visant à rechercher des cassures chromosomiques sur les métaphases, sur milieu enrichi en mitomycine C. Une analyse pan-génomique par CGH-array (Puce Agilent 44K) a également été réalisée, après l'EFP, pour 9 cas.
Grâce aux investigations biologiques et foetopathologiques, le diagnostic étiologique est connu pour 15 fœtus. 4 fœtus sont porteurs d'une maladie de Fanconi à mutations identifiées. 3 fœtus présentent une association malformative type « VATER », à CGH-array normale. 2 fœtus issus d'une même fratrie présentent un syndrome campomélique. Une cause tératogène est retenue dans un cas (embryofoetopathie au valproate). 5 anomalies de structure chromosomique sont diagnostiquées: un anneau du 13, une translocation déséquilibrée, une duplication partielle du bras long du chromosome 9 et deux microdélétions (del 13q et del 4q).
En l'absence d'EFP, 7 diagnostics sur 15 seulement auraient été réalisés (3 cas de maladie de Fanconi, 3 anomalies de structure chromosomique et le cas d'exposition au valproate).
Notre étude souligne les difficultés du dépistage anténatal des anomalies du rayon radial et la nécessité d'adopter une stratégie diagnostique rigoureuse pour ne pas méconnaître certaines étiologies: réaliser un caryotype et une PSF en l'absence d'aneuploïdie. En cas de pronostic péjoratif et de décision d'interruption médicale de grossesse, l'EFP est indispensable (plus de 50% des diagnostics de cette série sont réalisés à l'issue de l'EFP) et l'analyse pan-génomique par CGH-array est souvent incontournable pour l'identification ou l'exclusion d'anomalies infracytogénétiques.

POSTER

7. Développement et foetopathologie

P608 - PROFIL GENOMIQUE GERMINAL ET SOMATIQUE DES GENES NR5A1, MAMLD1 ET AR DANS L'HYPOSPADIAS.

M Peycelon (1), M Legendre (2), C Hyon (3), N Collot (1), S Chantot-Bastaraud (4), F Dastot-Le Moal (1), C Soleyan (4), C Grapin (5), G Audry (5), S Amselem (2), JP Siffroi (2)

1. Service de Génétique et Embryologie Médicales -UMRS 933, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
2. Service de Génétique et Embryologie Médicales - UMRS 933, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
3. Service de Génétique et Embryologie Médicales - UMRS 933 - Plateau Mutualisé de Génétique Constitutionnelle du GHU Est, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
4. Service de Génétique et Embryologie Médicales - Plateau Mutualisé de Génétique Constitutionnelle du GHU Est, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
5. Service de Chirurgie Viscérale, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France

Introduction. Malformation la plus fréquente des organes génitaux externes du garçon et en augmentation depuis deux décennies, l'étiopathogénie de l'hypospadias est encore largement discutée, faisant intervenir des facteurs endocriniens, vasculaires, environnementaux et génétiques.

Objectifs. Une anomalie génétique constitutionnelle étant retrouvée chez seulement 8% des patients, notre hypothèse a été de rechercher l'existence éventuelle de mutations somatiques au niveau du tissu urogénital, dont l'occurrence en tant qu'évènement unique pourrait expliquer la malformation (gènes portés par le chromosome X ou affectés par des mutations à transmission dominante). Trois gènes candidats, liés au métabolisme des androgènes et déjà impliqués dans l'hypospadias, ont été sélectionnés. NR5A1, codant pour le facteur de stéroïdogenèse SF1, est impliqué dans le déterminisme testiculaire, MAMLD1 permet d'augmenter la synthèse de testostérone et AR code pour le récepteur aux androgènes.

Matériels et méthodes. Une cohorte de 172 patients a été établie. Les familles de 20 de ces cas index ont été sélectionnées chronologiquement pour bénéficier d'un caryotype, d'une analyse en puce ADN et d'un séquençage des trois gènes candidats à partir de l'ADN des lymphocytes sanguins, des fibroblastes issus d'une culture de biopsie de prépuce et des frottis urétraux réalisés lors de l'intervention chirurgicale.

Résultats. Les techniques d'extraction d'ADN sanguin et préputial ont été qualitativement et quantitativement satisfaisantes mais l'extraction d'ADN à partir de cellules urétrales a présenté un rendement faible et peu reproductible. La caractérisation du transcrit majoritaire de MAMLD1 au niveau du tissu d'intérêt a permis de mettre en évidence une isoforme de sept exons dont les régions codantes n'ont pas été étudiées en totalité dans les études précédentes. Aucune mutation n'a été retrouvée chez les 20 premiers patients pour les trois gènes candidats, que ce soit au niveau germinal (N=20), préputial (N=18) ou urétral (N=2). Des variations introniques non décrites de NR5A1 (N=1), MAMLD1 (N=2) et AR (N=2) ont été retrouvées mais ne semblent pas susceptibles d'altérer l'épissage. La fréquence allélique du polymorphisme c.437G>C de l'exon 4 de NR5A1 est significativement inférieure dans la population étudiée (p

POSTER
7. Développement et foetopathologie

P609 - D'UN SIGNE INHABITUEL ANTENATAL A UN DIAGNOSTIC RARE : HYPERECHOGENICITE COLIQUE DISTALE AU TROISIEME TRIMESTRE DE GROSSESSE ET SYNDROME CDG 1A.
UNREPORTED ASSOCIATION OF FETAL HYPERECHOGENICITY OF DISTAL BOWEL AND CDG 1A SYNDROME.

L Lambert (1), H Ferry (2), F Feillet (3), E Raffo (4), P Bassnagel (5), MC Camoin-Schweitzer (6), J Straczek (7), T Dupré (8), B Leheup (9)
1. EA 4368 Déficiences mentales et anomalies de structure du génome; UF Génétique Clinique, Médecine Néonatale; Médecine Infantile 3 et Génétique Clinique, Université de Lorraine; Maternité Régionale et Universitaire; Centre Hospitalier Régional et Universitaire, Nancy, France
2. Service de Médecine Infantile 3 et génétique clinique, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Régional et Universitaire, Vandoeuvre-les-Nancy, France
3. Service de Médecine Infantile 1, Centre de Référence des Maladies Héréditaires du métabolisme, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Régional et Universitaire, Vandoeuvre-les-Nancy, France
4. Service de Médecine Infantile 1, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Régional et Universitaire, Vandoeuvre-les-Nancy, France
5. Imagerie anténatale, Clinique Majorelle, Nancy, France
6. Service de Médecine Infantile 1, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Régional et Universitaire, Vandoeuvre-les-Nancy, France
7. Laboratoire de Biochimie CHU Nancy, Centre Hospitalier Régional et Universitaire, Nancy, France
8. Laboratoire de Biochimie, APHP, CHU Bichat, Paris, France
9. Service de Médecine Infantile 3 et génétique clinique, Centre de Référence Syndromes Malformatifs et Anomalies du Développement, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Régional et Universitaire, Vandoeuvre-les-Nancy, France

Nous rapportons l'observation d'un enfant né en mars 2010. Il s'agit du premier enfant de parents non apparentés. La surveillance initiale de la grossesse est normale. A 34 SA sont découverts une hyperéchogénicité rectosigmoïdienne allant jusqu'au sphincter anal et une hypertrophie et hyperéchogénicité rénale bilatérale. Une duplication pyélourétérale gauche est suspectée. Cet aspect d'hyperéchogénicité intestinale distale fait discuter une cystinurie. Les hypothèses étiologiques suivantes sont rapidement écartées : - aneuploïdie : caryotype fœtal normal 46, XY, - mucoviscidose : fœtus indemne de mutation CFTR, risque résiduel de mucoviscidose à 1/1400, - cystinurie : acides aminés du liquide amniotique normaux.

L'enfant naît au terme de 37 semaines, l'adaptation est rapportée comme normale. Il présente un RCIU discrètement hétérogène (P -2.5 ds, T -3 ds , PC -1.5 ds). Des troubles précoces de l'alimentation sont rapportés. L'évolution est marquée par un déficit de croissance postnatal (poids et taille à -3DS en contraste d'un PC à -1.5 ds), et un développement neurologique anormal : hypotonie axiale, contact oculaire fugace, amyotrophie diffuse. La duplication pyélourétérale gauche a été infirmée, l'hyperéchogénicité rénale associée à une néphromégalie persiste lors de la dernière évaluation à un an durant les premiers mois de vie. La fonction rénale est normale.

Le bilan d'imagerie cérébrale du tableau d'hypotonie a mis en évidence à l'IRM cérébrale réalisée à 5 mois de vie une hypoplasie cérébelleuse majeure intéressant le vermis et les hémisphères. La suspicion de CDG syndrome est confirmée par le profil de glycosylation des protéines anormal. L'activité phosphomannomutase est effondrée à 0.3U/g de protéine. L'étude du gène PMM2 par séquençage bi-directionnel des exons et des jonctions intron-exon permet de mettre en évidence une hétérozygotie composite c.422G>A (p.Arg141His) et c.357C>A (p.Phe119Leu), la première à l'état hétérozygote chez le père, la seconde chez la mère, affirmant le diagnostic de CDGIa.

L'étude du profil de glycosylation du liquide amniotique n'a pas pu être réalisée en l'absence de conservation d'échantillon biologique.

L'association d'une hyperéchogénicité distale de la région rectosigmoïdienne n'a pas été rapportée comme signe d'appel d'un syndrome CDG. Une étude prospective ciblée serait nécessaire pour valider la valeur prédictive positive de ce signe dans le cadre d'une suspicion de CDG syndrome.

Mots-clé : CDG syndrome, hyperéchogénicité colique distale néonatale.

POSTER

7. Développement et foetopathologie

P610 - « FETAL VALPROATE SYNDROME » RECURRENT : INTERET D'UNE PRISE EN CHARGE MULTIDISCIPLINAIRE

N Belguith (1), MA Kossentini (1), S Hammami (2), I Ben Ayed (1), N Gharbi (1), I Chabchoub (3), I Feki (4), N Hamida (5), Kh Trabelsi (6), H Kamoun (1)

1. Génétique médicale, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
2. Laboratoire de Pharmacologie, Faculté de médecine, Sfax, Tunisie
3. Service de Pédiatrie, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
4. Neurologie, Hôpital Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie
5. Néonatologie, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
6. Gynécologie obstétrique, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

Les malformations congénitales sont extrêmement hétérogènes, elles peuvent être la conséquence de facteurs exogènes ou avoir un caractère génétique.

Nous rapportons l'observation de deux jumelles ayant un syndrome polymalformatif associant une dysmorphie cranio faciale, une anomalie des extrémités une cardiopathie, une anomalie de la fermeture du tube neural et une malformation génitale.

Elles sont issues d'une mère épileptique sous dépakine et qui a déjà perdu son premier enfant ayant un syndrome polymalformatif semblable.

Le caryotype standard en bandes G normal, l'association de cardiopathie et de l'anomalie des extrémités mime le syndrome de holt oram.

La reprise de l'interrogatoire a révélé l'absence de suivi des grossesses et la prise de la dépakine pleine dose.

Après revue de la littérature nous avons retenu le diagnostic du « fetal valproate syndrome ».

L'évolution a été marquée par le décès d'une fille par décompensation cardio respiratoire d'une broncho alvéolite. La deuxième âgée actuellement de 6ans est intégrée dans une association pour enfants handicapés.

La mère a été suivie pour sa troisième grossesse par un staff multidisciplinaire. La dépakine, n'a pu être arrêtée, a été remplacé par une Depakine LP avec association d'acide folique. L'échographie morphologique prénatale était normale et le bébé est né avec un hypospadias isolé.

Les indications valproate sont diverses : épilepsie (Dépakine), thymorégulateur ou traitement des épisodes maniaques (Dépamide). Des études récentes ont permis de montrer que le risque malformatif associé au valproate est nettement supérieur à celui des autres anticonvulsivants et des autres thymorégulateurs. Le profil tératogène est également spécifique, il associe des atteintes morphologiques et des troubles fonctionnels

Nous avons soulevé par cette observation l'intérêt d'une prise en charge multidisciplinaire des syndromes malformatifs pour pouvoir établir un diagnostic étiologique, apprécier le risque de récurrence et assurer une meilleure prise en charge.

POSTER
7. Développement et foetopathologie

P611 - CO-TRANSMISSION AUTOSOMIQUE DOMINANTE D'UNE MALADIE DES BRIDES AMNIOTIQUES ET D'UN SYNDROME LYMPHOEDEME-DISTICHIASIS

M Willems (1), O Yrivarren (2), N Bigi (1), C Coubes (1), P Blanchet (1), D Genevieve (1), MJ Perez (1), L Pinson (1), J Puechberty (1), M Vincent (1), S Jeffery (3), P Sarda (1)
1. Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Gynécologie-Obstetrique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. Medical Genetics Unit, St George's hospital, London, Royaume-Uni

La maladie des brides amniotiques comporte un large spectre de manifestations attribuées à un étranglement et une disruption de différentes parties de l'embryon. Elle correspond à un ensemble complexe de malformations congénitales incluant des amputations, des sillons cutanés de constriction, des pseudo-syndactylies, des pieds-bots.
La plupart des cas sont sporadiques mais des cas de récurrence intrafamiliale ont été décrits. Par ailleurs, la survenue d'une maladie des brides amniotiques a été rapportée dans le cadre de pathologies du tissu conjonctif, comme l'ostéogénèse imparfaite, le syndrome d'Ehler-Danlos de type IV, ou l'épidermolyse bulleuse, même si l'immense majorité des cas survient de façon isolée.
Le syndrome lymphoedème-distichiasis est une pathologie de transmission autosomique dominante liée à des mutations du gène FOXC2, avec expressivité variable, associant un distichiasis à un lymphoedème apparaissant généralement à l'adolescence, ainsi que des malformations diverses.
Nous rapportons ici le cas d'une mère et de son fils qui présentent tous 2 un syndrome lymphoedème-distichiasis avec mutation du gène FOXC2, associé à des anomalies distales des membres liées à la présence de brides amniotiques. Nous émettons l'hypothèse que cette association ne soit pas due au hasard, mais que l'anomalie d'expression de FOXC2 puisse jouer un rôle favorisant la rupture de l'amnios conduisant à la formation de brides amniotiques. Des études complémentaires visant à connaître l'expression placentaire et amniotique de FOXC2 sont en cours afin de corroborer cette hypothèse.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P612 - "MIEUX COMPRENDRE POUR MIEUX SE BATTRE " : STAGES PRATIQUES DE BIOLOGIE POUR LES MEMBRES D'ASSOCIATIONS DE MALADIES CHRONIQUES : UNE ACTION UNIQUE EN EUROPE ET INITIEE A MARSEILLE (TOUS CHERCHEURS).

M MATHIEU (1), J THIMONIER (1), C HAMMOND (1)
1. Tous Chercheurs, Inmed, Marseille, France

Notre association Tous Chercheurs a initié en mai 2004 un projet novateur à l'égard des associations de maladies chroniques. Ce projet découlait du constat suivant : l'implication des associations de malades dans les avancées en recherche est de plus en plus grande (participation aux essais cliniques et aux enquêtes, collecte de fonds pour soutenir la recherche, ...). Mais il persiste toujours un gouffre entre le milieu scientifique et les malades, lié au manque de connaissance de ces derniers sur la recherche et la biologie. Nous avons donc imaginé et mis en place des stages pratiques de biologie spécifiquement adaptés aux membres d'associations de malades. Ces stages, d'une durée de 3 jours, se déroulent dans notre laboratoire (Inmed, Marseille) : les participants apprennent ainsi à observer, à émettre des hypothèses et ils réalisent des expériences, encadrés par des chercheurs. De plus, chaque stage comprend une demi-journée de discussion et d'échange avec un chercheur ou médecin spécialiste de leur pathologie. Les stagiaires peuvent ainsi acquérir par la pratique, les bases de biologie et comprendre concrètement le travail de chercheur et les spécificités de la recherche. Nos stages, initialement destinés aux associations de maladies génétiques rares, ont été étendus, en 2008, aux maladies auto-immunes et inflammatoires. Le bilan de cette action, menée depuis plus de 7 ans, est très positif puisque plus de 400 membres d'associations de malades ont été formés à Marseille, lors de 46 stages. Ceci souligne l'intérêt des malades pour ce type de formations. D'autre part, nous avons étendu notre action à l'échelle nationale en 2007 en la transférant à la Fédération francophone des Ecoles de l'ADN. Enfin, un transfert est en cours vers la Belgique et de tels stages devraient voir le jour courant 2012 à l'Institut de Pathologies et de Génétique (Charleroi, Belgique).

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P613 - ALTERED MICROTUBULES DYNAMICS IN MECP2-DEFICIENT ASTROCYTES

J Nectoux (1), C Florian (1), N Bahi-Buisson (2), C Delepine (1), M Khelfaoui (3), J Chelly (1), T Bienvenu (1)
1. Inserm U1016, Université Paris Descartes, CNRS UMR8104, Paris, France
2. Neurpédiatrie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Interdisciplinary Institute for Neuroscience, UMR 5297, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

Rett syndrome (RTT) is a severe neurodevelopmental disorder caused by mutations in the gene MECP2 encoding the methyl-CpG binding protein 2. This genetic disease predominantly affects girls, and is characterized by a period of normal development that lasts 8 to 18 months followed by neurologic regression affecting both motor and mental abilities. Previous studies performed on brains from RTT subjects and Mecp2-deficient mice showed striking changes in neuronal maturation and dendritic arborization. Recently, we showed that expression of stathmin-like 2 (STMN2) was significantly reduced in fibroblasts from RTT patients and similar results were obtained in the cerebellum of Mecp2-deficient mice. Because neurite outgrowth is dependent on the integrity and stability of microtubules, known to be modulated by STMN2, we studied microtubule stability and dynamics in brain cells from Mecp2-deficient mice. We observed that MeCP2 deficiency affects microtubule dynamics in astrocytes from Mecp2-deficient mice. Our data reinforce the fact that the loss of MeCP2 in astrocytes may influence the onset and progression of RTT. These results imply that MeCP2 has a stabilizing role on microtubule dynamics and that MeCP2 deficiency, which is associated with STMN2 down-regulation, could lead to impaired microtubule stability, hence explaining dendritic abnormalities observed in RTT brains.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P614 - DES OLIGONUCLEOTIDES ANTISENS POUR CORRIGER LA PREMIERE CAUSE MOLECULAIRE A L'ORIGINE D'AMAUROSE CONGENITALE DE LEBER.

X GERARD (1), S HANEIN (2), J KAPLAN (2), A KICHLER (1), A MUNNICH (2), I PERRAULT (2), JM ROZET (2), D SCHERMAN (3)

1. GENETHON & CNRS8151-INSERMU1022, GENETHON, EVRY, France
2. Génétique - Fondation IMAGINE, HOPITAL NECKER, PARIS, France
3. CNRS8151-INSERMU1022, PARIS DESCARTES, PARIS, France

Introduction: L'amaurose congénitale de Leber (ACL) est la dystrophie rétinienne la plus sévère et précoce, responsable de cécité néonatale ou de malvoyance sévère dans la première année de vie. Dans les pays industrialisés, il s'agit de la première cause de malvoyance grave de l'enfant (10%). L'ACL est une affection hétérogène aux plans clinique, génétique, moléculaire et physiopathologique. A ce jour, 16 gènes d'expression et de fonction très variés ont été identifiés dont les mutations rendent compte de 70% des cas. La mutation c.2991+1655 A>G du gène CEP290 rend compte à elle seule de 10% des cas et est par conséquent une cible thérapeutique majeure. Cette mutation est localisée à grande distance des sites consensus d'épissage de l'intron 26. Elle y crée un site donneur d'épissage en aval du site cryptique accepteur fort. En conséquence, l'allèle mutant est transcrit sous la forme de deux messagers: l'un sauvage, l'autre mutant; Ce dernier contient un exon additionnel de 128 pb codant un signal d'arret prématuré de la traduction. L'objectif de l'étude présentée ici était d'évaluer la possibilité de réaliser in vitro un saut de l'exon mutant par l'utilisation d'oligonucléotides antisens (AON) pour corriger l'épissage pathologique.

Matériel et méthodes: La séquence de l'exon pathologique à fait l'objet d'une analyse in-silico afin de déterminer sa structure secondaire et d'y rechercher de potentielles séquences ESE. Des oligonucléotides antisens ont été dessinés pour couvrir à la fois le site donneur mutant d'epissage ou les ESEs et des structures ouvertes de la molécule. Des fibroblastes de contrôles (n = 4) et de patients porteurs de la mutation c.2991+1655A>G (n = 4 ; 3/4 homozygotes) ont été transfectées par les oligonucléotides antisense (2'O-méthyl-phosphorothioate AON)dans des conditions expérimentales optimisées. L'efficacité du saut d'exon a été évaluée par RT-PCR quantitative, Western blot et évaluation de la ciliogénèse, avant et après traitement.

Résultats et discussion: En l'absence de tout traitement, l'expression résiduelle des messagers sauvages dans les fibroblastes des patients est de 20% seulement. La transfection des lignées contrôles par les AONs ne modifient pas l'expression des messagers ou de la protéine. En revanche, la transfection des fibroblastes de patients permet une augmentation très significative de l'expression des messagers sauvages (p

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P616 - THE INSTITUT CLINIQUE DE LA SOURIS - ICS (MOUSE CLINICAL INSITUTE - MCI) IS A RESEARCH INFRASTRUCTURE OF EXCELLENCE FOR TRANSLATIONAL RESEARCH AND FUNCTIONAL GENOMICS PROVIDING A COMPREHENSIVE SET OF SPECIALISED SERVICES TO ACADEMIC AND INDUSTRIAL USERS.

t Sorg (1), e Bedu (2), r Combe (3), mf Champy (4), h Jacobs (5), m Roux (6), h Meziane (7), o Wendling (5), y Herault (8)
1. Direction technique phenotypage, ICS, strasbourg, France
2. Phenotypage, ICS, strasbourg, France
3. Phenotypage-cardiorespiratory system, ICS, Strasbourg, France
4. Phenotypage - Nutrition, metabolism et clinical chemistry, ICS, strasbourg, France
5. Anatomo-pathology, ICS, strasbourg, France
6. Phenotypage-Sensory system, ICS, strasbourg, France
7. Phenotypage-Behavior, Cognition and Sensory system, ICS, strasbourg, France
8. Direction, ICS, strasbourg, France

Generation and comprehensive phenotyping of mouse models at the ICS

The Institut Clinique de la Souris (ICS) is a research infrastructure of excellence for translational research and functional genomics. Founded in 2002 by Prof. Pierre Chambon, it provides a comprehensive set of highly specialized mouse services to scientists from academia and industry. The ICS combines the capacity of generating mutant mice on a large scale with a high-throughput and comprehensive phenotypic analysis of mice, but also customized protocols to better answer the scientist's needs.
The ICS phenotyping platforms are adapted for the study of genetically engineered mouse models, as well as for pharmacological and toxicological studies, allowing better understanding of human diseases and their underlying physiological and pathological basis. The ICS has successfully assembled a comprehensive platform offering more than 250 assays for various functions in behavior, cognition, sensory systems, nutrition, metabolism, clinical chemistry, cardiovascular, respiratory function and anatomopathology.
Beside its services, the ICS is a member of several European programs: EUCOMM (www.eucomm.org) to generate the mutant strains, EMMA (www.emmanet.org) to archive and distribute them, and EUMODIC (www.eumodic.org) to phenotypically characterize 500 knock-out models. It is also a partner of the Fondation Maladies Rares.

Up to now, we have screened about 80 mouse mutant lines through a comprehensive standardized pipeline covering morphology, metabolism, cardiovascular, bone, neurobehavior, sensory system, clinical chemistry, immunology and hematology. About 80% of the analyzed lines show at least one phenotypic trait, including embryonic lethality. This comprehensive, standardized, high-throughput phenotyping strategy allows thus to assign functions for new predicted unknown genes, confirm previously described traits, and go on with in-depth exploration assessment. The data are available to the scientific community (www.europhenome.org), as well as the mouse models through EMMA. The EUMODIC program will now be further extended to the 20 000 potential genes identified in the mouse genome and continued by the International Mouse Phenotyping Consortium (www.mousephenotype.org).
Towards this effort, the ICS has been granted by the Investissements d'Avenir, through the Infrastructure program PHENOMIN, to enhance the Phenogenomics in mouse models, develop novel technics and tools, better understand the gene function and the associated pathologies, and support the generation of novel therapeutics.

Contact : ics@igbmc.fr

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P618 - GENOMIC IMPRINTING DISRUPTION OF THE MOUSE NECDIN GENE: CONSEQUENCES AND CAUSES

A Rieusset (1), F Schaller (1), V DeLuca (1), L Bezin (2), F Muscatelli (1)
1. INSERM U901, Institut de Neurobiologie de la Méditerranée (INMED), Marseille, France
2. Inserm U1028 & CNRS UMR5292, Lyon Neuroscience Center, UCB Lyon 1, Bât. Dubois, Villeurbanne, France

The Prader-Willi Syndrome (PWS) is a rare neurodevelopmental genetic disorder. It is a complex disease for which the symptoms, evolving according to the age, present a high variability whose severity varies among patients. Several genes located in the 15q11-q13 region, including NECDIN gene, are involved in the PWS. These genes are regulated by the genomic imprinting mechanism: only the paternal allele of these genes is expressed, their maternal allele being silenced. Our team has generated a mouse model in which the paternal allele of the Necdin gene has been inactivated (+m/-p). This model presents phenotypical similarities with PW patients, notably respiratory distress which is responsible for lethality in 30% of pups but also sensory-motor defects and behavioural alterations. We observed that mortality affects more -/- pups than +m/-p mice suggesting in a functional role of the maternal allele in the mutant mice survival. We then investigated the expression of the Necdin maternal allele and showed an unexpected expression of this allele in +m/-p mice (detection of protein and transcript). 0n the basis of that observation, we wondered when and where that maternal Necdin expression occurs in Necdin +m/-p mutant mice. Necdin expression in mutants versus wild type mice was analyzed by immunohistochemistry, in-situ hybridization, western-blot and RT-qPCR. A variable maternal Necdin expression was observed in the nervous system, particularly in the brain (hypothalamus and medulla), at E12.5, E14.5, P1 and adult Necdin +m/-p mutant mice, issued from the same litter. For the first time, we observed in our mutant mice a maternal expression of the Necdin gene which is normally silent. It raises an important question about the existence of a loss of imprinting and its consequences in the human pathology, notably in the variability in the expression of the symptoms. Furthermore, we may expect a therapeutic pharmacological prospect. It also allows to contemplate a therapeutic pharmacological prospect by stimulating the maternal allele.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P619 - INTERACTION ENTRE SOX10 ET LES INTEGRINES B1 AU COURS DU DEVELOPPEMENT DU SYSTEME NERVEUX ENTERIQUE

V BARAL (1), F BONDON-BRODERS (2), N BONDURAND (1), A CHAOUI (1), S DUFOUR (2), B PROSPER (1), Y WATANABE (1)

1. INSERM U955, IMRB, Equipe 11 et Université Paris-Est, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
2. CNRS UMR144, Institut Curie, Paris, France

Les cellules de la crête neurale (CCN) se caractérisent par leur capacité de migration dans l'embryon et la variété des types cellulaires qu'elles sont capables de générer (mélanocytes, système nerveux entérique (SNE) et périphérique). Chez l'homme, plusieurs maladies congénitales affectant des organes et tissus divers ont pour origine une anomalie de migration, prolifération, survie ou différenciation de ces cellules. La maladie de Hirschsprung (HD) est l'une d'entre elles. Principale cause génétique d'obstruction intestinale fonctionnelle, cette maladie touche 1/5000 naissances et se caractérise par l'absence de ganglions entériques sur une longueur variable de l'intestin. Les études réalisées chez l'homme et les modèles animaux ont permis d'identifier une dizaine de facteurs essentiels au cours du développement du SNE. Au cours des dix dernières années nous avons concentré nos travaux de recherche sur deux de ces molécules : le facteur de transcription SOX10 et les intégrines de type β1, des récepteurs d'adhérence à la matrice extracellulaire.

C'est en analysant le phénotype des souris portant une invalidation du gène codant la sous-unité β1 des intégrines spécifiquement dans les CCN que l'importance des intégrines β1 au cours de la mise en place du SNE a été mise en évidence. Ces récepteurs semblent jouer un rôle primordial dans les processus qui contrôlent la migration des progéniteurs entériques. L'étude d'un modèle murin d'une forme syndromique de HD nous a quant à lui conduit à découvrir l'implication de SOX10 et à étudier son rôle dans la genèse de la maladie murine et en pathologie humaine. Les résultats obtenus au cours de ces dernières années soulignent le rôle essentiel de ce facteur de transcription sur le maintien de la réserve de cellules progénitrices entériques et le contrôle de leur différenciation. Son implication au cours des processus de migration reste à définir.

C'est afin de tester cette hypothèse que nous avons recherché l'existence d'inter-relations entre SOX10 et les intégrines de type β1 au cours du développement du système nerveux entérique. Pour cela, nous avons croisé des modèles murins présentant une invalidation de ces gènes et comparé le phénotype des simples et doubles mutants. Nous avons observé une forte aggravation du phénotype entérique chez les embryons Sox10+/- ; β1-/- dès E11.5, les CCN peinant à coloniser le petit intestin et formant un réseau très fortement désorganisé. Nous avons établi que ce défaut n'est pas compensé à la naissance. Ces résultats démontrent qu'une interaction entre ces deux facteurs est indispensable au développement normal du SNE. La recherche de l'origine cellulaire et des mécanismes moléculaires sous-jacents est en cours. La poursuite de cette étude nous permettra d'avancer dans la compréhension du rôle joué par ces deux facteurs dans la migration des CCN et ainsi de mieux comprendre l'origine des anomalies entériques observées chez les patients et les modèles murins.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P620 - IN MICE DEFICIENT FOR THE MAGEL2 IMPRINTED GENE, ALTERATIONS OF FEEDING AND SOCIAL BEHAVIOURS, ARE BOTH RESCUED BY OXYTOCIN; A THERAPEUTIC APPROACH FOR PRADER-WILLI SYNDROME.

H Meziane (1), S Bauer (2), F Schaller (2), F Riet (1), F Muscatelli (2)
1. Institut de la Clinique de la Souris, Ilkirch, Strasbourg, France
2. INMED-U901, INSERM, Marseille, France

Prader-Willi syndrome (PWS) is a complex neurogenetic disorder caused by the alteration of several imprinted contiguous genes including MAGEL2. PWS presents with various clinical manifestations, including poor suckling behaviour and feeding problems in neonates. Later, infants develop hyperphagia leading to severe obesity, learning difficulties, hypogonadism, and behaviour problems. Hypothalamic defects have been proposed but the pathophysiological mechanisms remain poorly understood. Previously, we have shown that Magel2 deficient mouse had an altered onset of suckling activity and subsequent impaired feeding, similar to PW newborns, resulting in 50% neonatal mortality (1). The hypothalamus of Magel2 mutant neonates showed a significant reduction in oxytocin content, and a single injection of oxytocin just after birth rescued the phenotype of Magel2 mutant pups, allowing all of them to survive. In addition, the 50% of surviving Magel2 deficient mice not treated with oxytocin at birth present, in adulthood, several behavioural disturbances, including altered social interaction. Again, acute oxytocin treatment rescues a normal level of social interaction in these mice. Interestingly, similar results have been obtained in PW patients (2) following an intranasal administration of oxytocin. We propose that oxytocin supply might constitute a promising avenue for the treatment of early feeding difficulties and social behaviour troubles in PW patients.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P621 - LES POLYMORPHISMES DU TGF BETA1 UTILISES COMME FACTEURS PREDICTIFS DE LA REPONSE CLINIQUE AU RITUXIMAB DANS LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE.

V Daïen (1), JP Daurès (1), S Fabre (2), C Immediato Daïen (2), C Jorgensen (2), N Molinari (3), C RITTORE (4), S Soler (4), G Tejedor (4), I Touitou (4), D Cadart (2)

1. Laboratoire de biostatistiques, Institut Universitaire de Recherche clinique, Montpellier, France
2. Département thérapeutique et médecine physique ostéoarticulaire, unité génétique Clinique, CHU Montpellier & INSERM U844, Montpellier, France
3. UMR729 MISTEA, Supagro, Montpellier, France
4. Unité médicale des maladies auto-inflammatoires, CHU Montpellier & INSERM U844, Montpellier, France

La réponse individuelle aux biothérapies utilisées dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde (PR) est imprévisible dans la pratique clinique quotidienne. En effet, il n'existe pour le moment aucun indicateur prédictif de la réponse clinique. L'objectif de notre étude est d'évaluer l'association entre plusieurs polymorphismes génétiques (SNP) et la réponse à un traitement anti-CD20 (rituximab) chez des patients atteints de PR.

Pour cela, 63 patients ont été inclus et 9 gènes candidats (13 SNP) ont ensuite été analysés : certains gènes codent pour des cytokines impliquées dans l'inflammation (IL-10 : rs1800896, LTA : rs1041981 et rs909253, TGFB1 : codon 10 rs1800470 et codon 25 rs1800471, TNF-a : rs1799724, rs 1800629 et r80267959, récepteur du TNF-II : rs1061622) et d'autres sont plutôt associés à la susceptibilité de la PR (C5-TRAF1 : rs1081848, STAT4 : rs7574865, TNFAIP3 : rs6920220 et PTPN22 : rs2476601).
44 patients ont été définis comme répondeurs et 19 non-répondeurs selon les critères de l'EULAR (European League Against Rheumatism) après 6 mois de traitement par rituximab (1,000 mg par voie intraveineuse une fois au jour 0 et au jour 15).
Les caractéristiques de base des 2 groupes ne sont pas significativement différentes (âge, sexe, facteur rhumatoïde, érosion, nombre de biothérapies précédentes, DAS28 initial…).
Un test de Fisher, un test de tendance de Cochran-Armitage et une analyse multivariée par régression logistique ont été réalisés pour analyser l'impact des polymorphismes sur la réponse au traitement.
Les codons 10 et 25 du TGFB1 ont été associés à une bonne réponse clinique. Le génotype C/T du codon 10 est associé à une réponse avec un niveau de signification p=0,002 et un OR de 1,6 ; le génotype G/C du codon 25 avec un niveau de signification p=0,025 et un OR de 1,6. Cette probabilité d'être répondeur augmente lorsqu'on retrouve les génotypes C/T pour le codon 10 et G/C pour le codon 25 chez un même patient (p=0.008 et OR=2,6).

En conclusion, bien que ces résultats aient besoin d'être confirmés sur une cohorte plus grande, les codons 10 et 25 du TGFB1 semblent être associés à une bonne réponse au traitement par rituximab et de ce fait, pourraient être utiles dans la prédiction de la réponse à cette biothérapie.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P622 - UN MODELE LEVURE POUR DES PATHOLOGIES MITOCHONDRIALES A PERMIS L'IDENTIFICATION DE DROGUES ACTIVES CONTRE DES MALADIES MITOCHONDRIALES HUMAINES

E Couplan (1), R Aiyar (2), R Kucharcczyk (3), A Kabala (3), N Ezkurdia (4), J Gagneur (2), R St. Onge (5), B Salin (4), F Soubigou (1), M Le Cann (1), L Steinmetz (2), JP di Rago (4), M Blondel (1)

1. Inserm U613 Faculté de Médecine de l'UBO, Inserm/UBO/CHRU Brest, Brest, France
2. EMBL, EMBL Heidelberg, Heidelberg, Allemagne
3. Institute of Biochemistry and Biophysics, Polish Academy of Sciences, Varsovie, Pologne
4. IBGC, CNRS/Université de Bordeaux 2, Bordeaux, France
5. Stanford Genome Technology Center, Stanford University, Palo Alto, USA

Du fait du manque de modèles animaux disponibles, le développement de traitements efficaces pour les maladies mitochondriales humaines est limité. Nous avons établi un modèles simple basé sur la levure de boulanger Saccharomyces cerevisiae et qui permet de cribler efficacement des chimiothèques pour y identifier des drogues actives contre des maladies génétiques mitochondriales affectant l'ATP synthase, en particulier le syndrome NARP (Neuropathie, Ataxie& Rétinite Pigmentaire). Cette méthode est basée sur la bonne conservation des fonctions mitochondriales de la levure à l'homme, sur la capacité unique de la levure à survivre sans production d'ATP par phosphorylation oxydative et sur la possibilité de réaliser de la mutagénése dirigée au nucléotide près sur le génome mitochondrial de levure, permettant ainsi d'y introduire des mutations synonymes de mutations responsables du syndrome NARP chez l'homme. Les mutations NARP chez la levure miment parfaitement leur effet chez les patients. Cette méthode nous a permis d'identifier la chlorhexidine, l'acide oléique et l'acide dihydroxy lipoïque comme capables de supprimer les phénotypes NARP chez la levure. Nous montrons que ces molécules suppriment la plupart des phénotypes résultants de ces mutations chez la levure. En outre, ces composés sont également actifs sur des cybrides humains dérivés de cellules de patients NARP. L'ensemble de ces résultats valide notre méthode comme une approche de criblage haut-débit pour identifier des drogues actives pour traiter des pathologies liées à des dysfonctionnement de l'ATP synthase et suggère que ce type de méthode pourrait être dérivé à d'autres pathologies mitochondriales, ce que nous sommes en train de faire actuellement.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P623 - DEVELOPPEMENT D'UN ESSAI FONCTIONNEL DE LA VOIE P53 EX VIVO

Y Zerdoumi (1), J Aury-Landas (2), G Bougeard (1), T Frebourg (3), JM Flaman (1)
1. Inserm U614, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie, Rouen, France
2. Inserm U614, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie, Cancéropole Nord-Ouest, Rouen, France
3. Inserm U614 et Département de Génétique, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie et CHU, Rouen, France

Le syndrome de Li-Fraumeni (LFS) est une des formes héréditaires de cancer les plus sévères résultant de l'inactivation constitutionnelle du gène suppresseur de tumeur TP53. Les altérations constitutionnelles du gène suppresseur de tumeur TP53 sont majoritairement de type faux sens. Les essais fonctionnels des mutations de TP53 que nous avons développés dans la levure Saccharomyces cerevisiae ont montré que la très grande majorité de ces mutations inactivaient la fonction transcriptionnelle de p53 et que certains mutants conservaient leur propriété transcriptionnelle vis à vis des systèmes indicateurs utilisés, révélant ainsi l'hétérogénéité biologique des protéines mutantes. Nous avons développé un nouvel essai fonctionnel testant directement l'intégrité de la voie p53 dans les cellules. Dans un premier temps les cellules sont exposées à un agent génotoxique activant la voie p53, tel la Doxorubicine, puis l'induction transcriptionnelle de plusieurs gènes cibles de p53 est mesurée par RT-PCR multiplex quantitative (RT-QMPSF). Cet essai a été validé dans les lignées cellulaires NCI-H460 et Saos-2, respectivement sauvage et déficiente pour le gène TP53 puis dans des lignées lymphoblastoïdes dérivées de sujets contrôles et de patients atteints de LFS et présentant une mutation constitutionnelle hétérozygote de TP53. Nous avons montré que le taux d'induction des gènes cibles, sélectionnés au cours de ce travail (PUMA, PPM1D, XPC, P53R2 et BTG2), était significativement réduit dans les cellules présentant une mutation hétérozygote de TP53. Cet essai fonctionnel permet de classer les nouveaux variants de signification inconnu de TP53, de déterminer s'il existe chez des patients évocateurs d'un LFS une altération de la voie p53 même en l'absence de mutation détectable de TP53 et d'appréhender de manière globale et biologique l'étude de la pénétrance des mutations de TP53.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P624 - L'ACCUMULATION DE FORMES INSOLUBLES DE LA PROTEINE FUS HUMAINE EST TOXIQUE DANS UN MODELE DROSOPHILE DE DEMENCE LOBAIRE FRONTOTEMPORALE (DLFT)

L Miguel (1), T Avequin (1), M Delarue (1), S Feuillette (1), T Frebourg (2), D Campion (1), M Lecourtois (1)
1. Inserm U614, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie, Rouen, France
2. Inserm U614 et Département de Génétique, Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Rouen, Institut de Recherche et d'Innovation Biomédicale de Haute-Normandie et CHU, Rouen, France

Les dégénérescences lobaires frontotemporales (DLFT) rassemblent des maladies neurodégénératives très hétérogènes sur le plan clinique, neuropathologique et génétique mais dont le point commun est une localisation préférentielle des lésions au niveau des lobes frontaux et temporaux du cerveau. Ensemble, ces maladies constituent la deuxième cause de démence dégénérative chez les patients de moins de 65 ans après la maladie d'Alzheimer. En 2009, la protéine Fused in Sarcoma (FUS) a été identifiée comme étant le constituant majeur des inclusions neuronales et gliales retrouvées chez ~ 6% des patients atteints de DLFT. Des inclusions similaires ont également été identifiées dans le cerveau et la moelle épinière de patients souffrant de sclérose latérale amyotrophique (SLA). Dans les conditions physiologiques, la protéine FUS est soluble et retrouvée majoritairement dans le noyau. Cette protéine multifonctionnelle a été impliquée dans le contrôle des différentes étapes de l'expression génique, transcription, épissage, maturation, transport et traduction de l'ARNm. Chez les patients, aucune modification post-traductionnelle spécifique de la pathologie n'a été décrite, en revanche la protéine pathologique présente des propriétés biochimiques particulières d'insolubilité. Dans le but d'appréhender les mécanismes de neurotoxicité de la protéine FUS, nous avons développé des drosophiles transgéniques capables d'exprimer grâce au système binaire Gal4/UAS, la protéine FUS humaine. Notre étude nous a permis de mettre en évidence que la protéine FUS humaine exprimée dans les cellules de la rétine est principalement retrouvée sous une forme soluble et que sa surexpression conduit à une altération très minime de la morphologie externe de l'œil de la mouche. En revanche, lorsque la protéine FUS est spécifiquement ciblée dans les neurones différenciés de la mouche adulte, elle est principalement retrouvée sous forme d'espèces insolubles, et sa surexpression réduit considérablement la durée de vie des mouches. De manière très intéressante, la co-expression de la chaperone moléculaire Hsp70 avec la protéine FUS réduit de manière significative la toxicité de cette dernière, en modulant sa solubilité. Enfin, nous avons observé que la neurotoxicité de la protéine FUS se produit indépendamment de la formation de l'inclusion similaires à celles observées chez les patients. En conclusion, nos travaux révèlent que l'accumulation de formes insolubles non agrégées de protéines FUS pourrait constituer un événement clé dans la pathogenèse de la maladie, et ce que ces formes pourraient représenter les formes primaires toxiques.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P625 - MINERALOCORTICOID RECEPTOR MUTATIONS AND A SEVERE RECESSIVE PSEUDOHYPOALDOSTERONISM

EL Hubert (1), R Tessier (2), FL Fernandes-Rosa (1), M Fay (3), ME Rafestin-Oblin (3), X Jeunemaitre (1), C Metz (2), B Escoubet (3), MC Zennaro (1)

1. U970, Inserm - PARCC - Equipe 3 "Gènes et Pression Artérielle", Paris, France
2. Pediatrie, Centre Hospitalo-universitaire de Brest, Brest, France
3. U872, Inserm - Centre de Recherche Biomédicale Bichat-Beaujon CRB3, Paris, France

Context: Renal pseudohypoaldosteronism type 1 (PHA1) is a rare autosomal dominant form of mineralocorticoid resistance characterized by salt wasting and failure to thrive in infancy. Results: We report a unique pedigree, in which the index case was diagnosed with mild, renal PHA1, and a sibling subsequently presented with an extremely severe phenotype. Genetic analysis identified a frameshift mutation in exon 2 of the NR3C2 gene (p.Ser166X) coding for the mineralocorticoid receptor (MR) in the index case, which had been transmitted from the symptomatic father. A second nonsense mutation in exon 6 (p.Trp806X) was carried by the asymptomatic mother. The child presenting with severe PHA1 was compound heterozygous for both mutations.

Whereas the truncated MR166X protein was not expressed, MR806X was present both at the mRNA and protein level at the expected size of ~90 kDa. We showed that the replacement of tryptophan with a stop codon at the very beginning of the MR LBD completely abolished hormone binding. Moreover, aldosterone increased transactivation by the MRWT in a dose-dependent manner, with an ED50 of ~5*10-11M. Remarkably, in transient transfection assays, MR806X was constitutively active in the absence of ligand, possessing ~7% to 45% of aldosterone-dependent transcriptional activity of the MRWT, depending on the cell type. Similar results were observed in the presence of cortisol, another physiological MR ligand. In contrast to MRWT, which localizes to the cytoplasm in the absence of hormone, and presents aldosterone-dependent nuclear translocation within 30 min, MR806X showed both cytoplasmic and nuclear localization independently of hormone. Mammalian two hybrid assays showed that the repertoire of transcriptional coactivators recruited to the MR806X is decreased as compared to the wild-type receptor.

Conclusions: Clinical, biochemical and genetic investigations allowed characterizing the first case of a newborn infant with severe recessive PHA1 caused by two heterozygous mutations in the NR3C2 gene Partial nuclear localization, together with the loss of inhibitory functions, may underlie the partial ligand-independent transcriptional activity of the mutated MR. This exceptional case demonstrates that a minimal residual activity of the MR is compatible with life. It also suggests that rare hypomorphic NR3C2 alleles may be more common in the general population than expected from the prevalence of detected PHA1 cases. This might prove relevant for patient's care in neonatal salt losing-disorders and may affect renal salt handling and blood pressure in the general population.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P626 - A TRUNCATING MUTATION OF THE PTCHD1 GENE, WHICH ENCODES A TRANSMEMBRANE PROTEIN EXPRESSED IN POSTSYNAPTIC DENDRITIC SPINES, IS ASSOCIATED WITH NON SYNDROMIC INTELLECTUAL DISABILITY

F Laumonnier (1), H Dollfus (2), S Marouillat (3), C Antar (4), MA Papon (3), P Vourc'h (4), CR Andres (4), H van Bokhoven (5), J Chelly (6), H Van Esch (7), HH Ropers (8), M Raynaud (9), A Toutain (9)

1. Inserm UMR930, Université François-Rabelais, Tours, France
2. Inserm Avenir EA3949, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
3. Inserm UMR930, Université François-Rabelais de Tours, Tours, France
4. Inserm UMR930 - service de Biochimie et biologie moléculaire, CHRU et Université François-Rabelais, Tours, France
5. Dpt of Human Genetics, Radboud University Nijmegen Medical Center, Nijmegen, Pays-bas
6. Institut Cochin, Université Paris-Descartes, Paris, France
7. Center for Human genetics, University hospitals, Leuven, Belgique
8. Dpt of Human Molecular genetics, Max-Planck Institute for Molecular Genetics, Berlin, Allemagne
9. Inserm UMR930 - Service de génétique, CHRU et Université François-Rabelais, Tours, France

The PTCHD1 gene (Patched Homology domain 1), located at Xp22.1, has been involved in previous studies describing genomic deletions and missense mutations in patients with autism and/or non-syndromic intellectual disability (ID). Considering that this gene represent a strong candidate for these neurodevelopmental disorders, we searched for mutations on genomic DNA of patients and families collected from the EuroMRX consortium cohort. We characterized a point deletion in the PTCHD1 gene coding sequence (c.2128delC, p.L710CfsX12), which would lead to the expression of a truncated form of the PTCHD1 protein lacking the last 180 amino-acids, in a French patient with non-syndromic ID (family T143).

Little is known regarding the neurodevelopmental expression of the PTCHD1 gene, as well as the neuronal function of the encoded protein. We performed neurodevelopmental expression and neuronal subcellular localization studies in mouse brain. We found a high expression level in midbrain structures at different fetal stages, and a peak of expression level in the cerebellum and hypothalamus in adult stages. Immunocytochemistry analyses on mature primary neuronal cultures using a custom PTCHD1 antibody revealed that PTCHD1 co-localized with the postsynaptic marker SHANK3, suggesting a potential function in dendritic spines. Interestingly, the protein sequence indicate that the last 4 amino-acids (ITTV) fit with a PDZ binding domain consensus sequence that is found in various postsynaptic proteins (NLGN, NMDAR subunits) for linking PDZ-domain containing proteins.

In summary, we confirm the contribution of PTCHD1 gene mutations in X-linked ID therefore suggesting that this gene would has a crucial role in cognition and communication processes during the development of the central nervous system.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P627 - PRE CLINICAL MUTATION CARRIERS FROM FAMILIES WITH DILATED CARDIOMYOPATHY AND ANGIOTENSIN CONVERSION ENZYME INHIBITOR (THE PRECARDIA STUDY)

Ph Charron (1), D D'Alençon (2), P Elliott (3), H Katus (4), J Mogensen (5), L Monserrat (6), YM Pinto (7), C Trovati (8), U Aslam (1), E Arbustini (8)

1. Inserm UMRS 956 & AP-HP, Hôpital La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Pôle Recherche Clinique, Inserm Siège, Paris, France
3. cardiology dept, The Heart Hospital, London, Royaume-Uni
4. cardiology dept, University Hospital, Heidelberg, Allemagne
5. cardiology dept, Skejby University Hospital, Aarhus, Danemark
6. cardiology dept, University Hospital, A Coruna, Espagne
7. Heart Failure Research Center, Academic Medical Center, Amsterdam, Pays-bas
8. Center for Heritable Cardiovascular Diseases, IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italie

Context. Dilated Cardiomyopathy (DCM) is one of the leading causes of Heart Failure due to systolic dysfunction and at least 30% of DCM are of familial/genetic origin, usually with autosomal dominant inheritance, and underlying genes and mutations are increasingly identified. Familial Dilated Cardiomyopathy is characterized by age-related penetrance (or delayed-onset), that means that the cardiac expression of the disease (echocardiographic abnormalities) is usually absent for a long period and progressively appears with advanced age, usually after 20 years of age.

Aim. Study the impact of angiotensin conversion enzyme inhibitors (ACEi) in subjects who carry a mutation (leading to a genetic form of heart failure) but have not yet developed DCM.

Design of the study. This is a multicentre European double-blind randomized and controlled trial with 2 parallel groups (1 study medication: perindopril, 1 placebo) in the context of a European consortium “INHERITANCE” (FP7 European Union, HEALTH-2009-2.4.2-3, Grant agreement n° 241924). The PRECARDIA trial was recently approved by the Head of medicines Agencies in Europe (HMA) and by AFSSAPS in France. We plan to enroll 200 participants from 7 European centres/countries. Follow-up duration is 3 years after inclusion. Primary Endpoint is a composite end-point: occurrence of DCM or deterioration of left ventricle end diastolic diameter/volume or ejection fraction (echocardiographic or magnetic resonance imaging). Secondary Endpoints are related to the evolution of other echocardiographic parameters or hormonal biomarkers (including Mid-Regional pro-Adrenomedullin).

Expected results: If the hypothesis is confirmed, and as a consequence, the knowledge derived from basic research (genes identification in DCM) will be translated into clinical practice (early identification of subjects at high risk of developing heart failure through predictive genetic testing) with the development of new therapeutic management (early ACEi) that will help to decrease the morbidity and mortality associated with the disease. This will constitute a paradigm of the development of preventive medicine thanks to the development of genetics in the cardiovascular field.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P628 - ANALYSE DE VARIANTS DE SIGNIFICATION INCONNUE DU GENE ABCC8 PAR UN TEST FONCTIONNEL D'EPISSAGE.

C Saint-Martin (1), C Vaury (1), F Coulet (2), C Bellanné-Chantelot (1)
1. Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, Hôpital de la Pitié Salpêtrière, Paris, France

L'hyperinsulinisme congénital caractérisé par une sécrétion inappropriée d'insuline par les cellules beta-pancréatiques est la principale cause d'hypoglycémie chez le jeune enfant. Une prise en charge rapide et adaptée est primordiale pour éviter toute complication neurologique. Celle-ci dépend de la réponse du patient au diazoxide et du diagnostic histopathologique. La forme focale correspond à une hyperplasie limitée à quelques îlots de Langherans et est guérie par une pancréatectomie ciblée de la lésion alors que la forme diffuse est une hyperplasie de l'ensemble des îlots de Langherans et nécessite une pancréatectomie subtotale. Les formes résistantes au diazoxide sont majoritairement associées à des mutations des gènes ABCC8 et KCNJ11 codant pour les sous-unités SUR1 et KIR6.2 du canal potassique sensible à l'ATP (KATP) qui régule la sécrétion d'insuline par les cellules beta du pancréas. Les formes focales sont associées à la présence d'une mutation paternelle du canal KATP et à une perte somatique de l'allèle maternel. Les formes diffuses quant à elles sont dues à une inactivation biallélique constitutionnelle du canal.

Dans le cadre de cette pathologie sévère pour laquelle le diagnostic génétique est important pour orienter la prise en charge thérapeutique vers une pancréatectomie ou non, il est indispensable de caractériser précisément tous les variants identifiés sur la séquence des gènes ABCC8 et KCNJ11. Nous avons donc mis en place une méthodologie visant à tester in vitro l'épissage d'exons comportant des variants de signification inconnue.

Nous avons testé deux variants de signification inconnue du gène ABCC8 : c.2924-9G>A dans l'intron 24 et c.3992-3C>G dans l'intron 32. Ont été utilisées comme contrôles positifs des mutations connues pour altérer l'épissage, c.2924-2A>G et c.3992-9G>A. L'ADN génomique de la région correspondante a été amplifié chez les patients puis sous-cloné dans le plasmide pSPL3. Les plasmides ont ensuite été transfectés dans des cellules HeLa dont les ARN ont été extraits, rétrotranscrits et séquencés. L'analyse des séquences permet de mettre en évidence l'excision ou non des exons concernés.

Ce test fonctionnel d'épissage a permis de reclasser des variants de signification inconnue, et donc de conclure à l'identification d'une mutation ou non dans un cas d'hyperinsulinisme. Il constitue une approche unique pour les gènes dont le profil d'expression ne permet pas un accès au transcrit des patients. Dans le cadre de l'hyperinsulinisme congénital, 17% des mutations identifiées dans le gène ABCC8 sont des mutations proches des sites d'épissage. Cette méthode devrait permettre d'y associer des variants plus lointains voire des variants faux-sens ayant un effet sur l'épissage.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P629 - IDENTIFICATION DE NOUVEAUX BIOMARQUEURS DE LA PROGERIA DE HUTCHINSON-GILFORD DANS LE CADRE DU DEVELOPPEMENT D'APPROCHES THERAPEUTIQUES

R FAYEK (1), C NAVARRO (2), D DEPETRIS (1), C BARTOLI (2), P ROUBERTOUX (2), M BARTOLI (2), N LEVY (3), A De Sandre-Giovannoli (3)

1. Aix-Marseille Université, Inserm UMR_S910, Faculté de Médecine de Marseille, 13385 Marseille Cedex 05, France
2. Aix-Marseille Université, Inserm UMR_S910, Faculté de Médecine de Marseille, 13385 Marseille cedex 05, France
3. AP-HM, Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone, 13385 Marseille cedex 05, France

La Progéria ou HGPS (Hutchinson- Gilford Progeria Syndrome) est une maladie génétique très rare (1/4 à 8 millions de naissances) caractérisée par un vieillissement prématuré et accéléré. Les patients atteints de la Progéria sont généralement asymptomatiques à la naissance et développent les premiers signes de maladie entre un et deux ans d'âge. On observe un retard de croissance, des lyses osseuses distales, une lipoatrophie et une atteinte cardiovasculaire diffuse de type artériosclérotique, à l'origine du décès. En 2003, la mutation responsable de la maladie a été identifiée dans le gène LMNA codant les Lamines A/C. Il s'agit d'une mutation de novo, agissant sur l'épissage et entraînant la production d'une isoforme tronquée de la Lamine A appelée Progérine. Cette protéine reste anormalement farnésylée et produit des effets dominants négatifs toxiques sur les cellules. Les Lamines, protéines nucléaires ubiquitaires, sont essentielles non seulement au maintien de la structure de l'enveloppe nucléaire mais aussi à de nombreux processus cellulaires majeurs comme la réplication, la réparation de l'ADN, et la régulation de l'expression génique. Le but de cette étude est l'identification d'un « set » de biomarqueurs moléculaires et cellulaires, caractéristiques de la Progéria pouvant être suivis lors de la mise en œuvre d'approches thérapeutiques, à la fois sur un modèle murin et des cellules des patients. Nous avons pour cela utilisé un modèle transgénique Knock-in (KI LmnaG609G) récemment développé par notre équipe qui reproduit fidèlement les défauts moléculaires impliqués dans la pathologie. Nous avons utilisé la PCR quantitative en temps réel pour identifier des gènes dérégulés pouvant servir de marqueurs moléculaires de la pathologie. Nous avons pu mettre en évidence des dérégulations de cibles de p53 et de certains membres de la famille des Sirtuines. Par ailleurs, nous avons mis au point une technique de culture cellulaire standardisée utilisant la technologie des CYTOO Plates™. Cette technique de culture sur micropatterns spécifiques associée à différents immunomarquages, permet d'observer la distribution de nombreux organites cellulaires et de mettre en évidence des anomalies très fines de manière très reproductible. Ces deux types de marqueurs, moléculaires et cellulaires, nous permettrons d'une part de mieux comprendre la physiopathologie de la maladie et d'autre part d'évaluer de manière simple et reproductible l'efficacité préclinique de nouvelles approches thérapeutiques dans la Progéria.

Mots clés : Progéria, Vieillissement, Lamines, Biomarqueurs, Sirtuines, CYTOO.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P630 - REPONSE PHARMACOGENETIQUE DE LA TIANEPTINE DANS LA DEPRESSION : ASSOCIATION DE GENES DES VOIES GLUTAMATERGIQUE ET SEROTONINERGIQUE

N RAMOZ (1), A NASR (1), Y LE STRAT (1), P GORWOOD (2)
1. INSERM UMRS894, Centre de Psychiatrie et Neurosciences, Paris, France
2. CMME, Hôpital Sainte-Anne, Paris, France

La dépression est la maladie psychiatrique la plus fréquente. Près de 20% des français ont vécu ou vivront un épisode dépressif majeur (EDM) au cours de leur vie. Le traitement par tianeptine n'est pas efficace chez l'ensemble des patients déprimés. En fait, la réponse à la tianeptine, comme celle des autres antidépresseurs, est modulée par des facteurs génétiques. La tianeptine agirait sur les voies glutamatergique et sérotoninergique. L'objectif de notre travail est d'analyser des polymorphismes de 12 gènes impliqués dans les voies glutamatergique et sérotoninergique chez 3536 patients traités avec la tianeptine pour un EDM pour identifier une association pharmacogénétique avec une réponse positive au traitement.
Un total de 3536 sujets présentant un EDM ont été traités avec la tianeptine. Les critères pour un EDM étaient diagnostiqués selon le DSM-IV. La durée et l'intensité de chaque symptôme étaient mesurées à l'inclusion, 4 et 8 semaines de traitement. L'échelle d'anxiété et de dépression (HAD) était évaluée à chaque visite. L'ADN a été extrait d'un prélèvement salivaire et le génotypage de 49 variants nucléotidiques (SNP) de 12 gènes candidats a été réalisé par Taqman assay.
Les données cliniques et génétiques de 3536 patients déprimés et traités par tianeptine ont été collectées. Sept SNP, localisés dans quatre gènes différents, ont été associés à une réponse positive au traitement, correspondant à une réduction de 50% de la HAD. Cela était confirmé dans le sous-groupe de 3040 patients Caucasiens.
Pour conclure, nous avons identifié une association pharmacogénétique entre les gènes des voies glutamatergique et sérotoninergique, et la réponse à la tianeptine dans le traitement d'un épisode dépressif majeur.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P631 - IMPACT DE LA METHODE DE CULTURE CELLULAIRE SUR L'INSTABILITE GENOMIQUE DES CELLULES SOUCHES EMBRYONNAIRES HUMAINES (HES)

L TOSCA (1), O FERAUD (2), A MAGNIEZ (2), C BAS (3), A BENNACEUR-GRISCELLI (4), G TACHDJIAN (1)

1. Histologie Embryologie Cytogénétique Esteam Paris Sud INSERM UMR-S 935 Université Paris Sud, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
2. Esteam Paris Sud INSERM UMR-S 935, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France
3. Histologie Embryologie Cytogénétique Esteam Paris Sud INSERM UMR-S 935, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
4. Hématologie, Esteam Paris Sud INSERM UMR-S 935, Université Paris Sud, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

Les cellules souches embryonnaires humaines (hES) sont dérivées de la masse cellulaire interne d'embryons au stade blastocyste. Elles sont pluripotentes car elles sont capables de se différencier dans tous les types cellulaires issus des trois feuillets germinaux. In vitro elles peuvent se multiplier de manière illimitée par auto-renouvellement en réponse au bFGF et à l'activine. Néanmoins, les passages successifs en culture s'accompagnent d'anomalies chromosomiques dont le risque augmente avec le nombre et la méthode de passage des colonies par trypsine ou collagénase (Draper 2004). La dissociation mécanique est nécessaire pour minimiser ce risque. L'analyse cytogénétique systématique (caryotype, FISH) a mis en évidence de fréquentes anomalies chromosomiques dont certaines récurrentes comme les trisomies 12, 17 ou la duplication 20q11.21 (Lefort et al. 2008, Spits et al. 2008). Cependant, aucune étude n'a analysé l'impact des repiquages manuels sur l'instabilité génomique.

Nous avons analysé trois lignées hES: H1, H9 (Wisconsin, USA) et CL01 (Esteam, Paris Sud) cultivées sur MEF et bFGF et maintenues en culture par repiquages successifs (dissociation mécanique ou enzymatique à la collagénase douce). La stabilité génomique des cellules a été analysée aux passages précoces (p20-50) et tardifs (p90-160) par hybridation génomique comparative (CGH array 105K). Plusieurs critères ont été évalués: 1) la répartition globale des réarrangements dans le génome, 2) la proportion des gains et des pertes d'ADN 3) la taille des réarrangements et 4) la catégorie de gènes impliqués répartis en quatre groupes selon leur fonction et implication dans des pathologies (syndrome/maladie, tumorigenèse, cycle cellulaire/croissance/apoptose et développement).

1) Quelque soit les conditions de culture, on observe une répartition spécifique des réarrangements au niveau des régions subtélomériques et péricentromériques. 2) Il n'existe pas de différence entre les proportions de gains et de pertes. 3) On observe de nombreux remaniements < 100Kb dans les deux conditions de passage. En revanche, les remaniements > 1Mb sont uniquement observés avec la collagénase. 4) Ces instabilités concernent les quatre groupes de gènes.

En conclusion, quelque soit la technique de repiquage cellulaire la culture induit des remaniements chromosomiques répartis sur des régions instables. Les remaniements les plus fréquents sont de petite taille. La méthode de passage enzymatique induit des remaniements dont le contenu en gènes suggère un avantage sélectif pour les cellules porteuses d'instabilités génétiques (perte de gènes suppresseurs de tumeurs et gain d'oncogènes). Cette technique augmente aussi le nombre de remaniements de grande taille donc susceptibles de contenir d'avantage de gènes. Ainsi, cette étude confirme l'importance de l'analyse par CGH array dans le contrôle qualité des banques établies de cellules ES et iPS et l'identification les évènements moléculaires à risque oncogénique.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P632 - BMN111, UN ANALOGUE DU CNP, STIMULE LE CROISSANCE OSSEUSE ET CORRIGE LE NANISME DANS DEUX MODELES MURIN FGFR3

N Kaci (1), F Lorget (2), J Peng (2), C Benoist (1), S Bullens (2), S Bunting (2), L Tsuruda (2), C O'Neill (2), F Di Rocco (1), A Munnich (1), L Legeai-Mallet (1)

1. INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. BioMarin, BioMarin Pharmaceutical Inc, Novato, USA

Le fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3) a été identifié en 1994 comme le gène responsable du nanisme le plus fréquent, l'achondroplasie (ACH), d'une forme moins sévère l'hypochondroplasie (HCH) et de la forme létale le nanisme thanatophore. A ce jour les traitements proposés pour ces chondrodysplasies sont principalement chirurgicaux. Depuis plusieurs années le peptide natriurétique de type C (CNP) est considéré comme un agent thérapeutique potentiel pour l'ACH en raison de sa fonction inhibitrice de la voie de signalisation en aval FGFR3. Le transgène CNP surexprimé ou bien le CNP natif perfusé en continue corrige la croissance osseuse dans un modèle murin d'achondroplasie. La demi vie très courte du CNP natif exclue toute approche thérapeutique avec ce petit peptide. En 2010, BioMarin a développé un analogue du CNP, le BMN111, avec une demi-vie permettant des injections sous cutanées quotidiennes. L'activité pharmacologique de BMN111 a été caractérisée dans deux modèles Fgfr3 de souris transgéniques. Dans le premier modèle murin Fgfr3G380R/+, l'expression du transgène est restreinte aux chondrocytes alors qu'il est exprimé de façon ubiquitaire dans le modèle Fgfr3Y367C/+. Un phénotype plus sévère est observé chez la souris Fgfr3Y367C/+, les os longs sont très courts et trapus, la plaque de croissance est désorganisée, la tête est arrondie et les souris sont prognathes. Des injections sous-cutanées quotidiennes de BMN111 ont été administrées aux souris Fgfr3Y367C/+. âgées de 6 jours et les souris Fgfr3G380R/+, âgées de trois semaines. Les souris Fgfr3Y367C/+ ont été traitées pendant 10 jours à des doses allant de240 µg/kg jusqu'à 800 µg/kg et les souris Fgfr3G380R/+ ont été traitées pendant 5 semaines à des doses allant de 80 µg/kg jusqu'à 280 µg/kg. Globalement, le traitement été bien toléré. Une croissance du squelette axial et appendiculaire est observée dans les deux modèles murins. Le gain de taille est d'environ 5-10% dans les deux groupes ayant reçus une dose élevée de BMN111. L'effet de BMN111 au niveau de la plaque de croissance se traduit par une modification de l'architecture de la plaque de croissance et de la taille du centre d'ossification secondaire. Ces résultats très prometteurs font de BMN111 un potentiel agent thérapeutique pour l'achondroplasie et l' hypochondroplasie.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P633 - TRAITEMENT PHARMACOLOGIQUE DE LA SOURIS MODELE DU SYNDROME DE RETT PAR DES AGENTS PHARMACOLOGIQUES CIBLANT LES SYSTEMES BIOAMINERGIQUES

A Ghata (1), N Panayotis (1), E Dura (1), A Borges Correia (1), R El Khoury (1), V Matagne (1), L Villard (1), JC Roux (1)
1. INSERM U910, Faculté de Médecine de La Timone, Marseille, France

Le syndrome de Rett (RTT) est une maladie neurologique progressive qui affecte les filles avec une incidence de 1/15.000 naissances. Le gène MECP2 (Methyl CpG binding protein 2) est muté dans plus de 95% des cas typiques. Cette pathologie se manifeste classiquement 6 à 18 mois après la naissance et elle conduit à un polyhandicap sévère marqué par des atteintes cognitives, motrices et autonomes. Notre équipe travaille depuis plusieurs années avec la souris Mecp2-deficiente développée par A. Bird Mecp2tm1.1Bird et qui mime assez fidèlement le RTT. Nous utilisons une batterie de tests comportementaux permettant d'étudier in vivo ces souris : grip strengh, rotarod et open field. Nous étudions également le métabolisme énergétique et le profil respiratoire chez des souris Mecp2-/y au cours du développement postnatal. Nos résultats ont permis de mettre en évidence que l'absence de Mecp2 induit des déficits affectant tout d'abord les réflexes, puis le comportement moteur et enfin l'intégration neurosensorielle et autonome de l'animal (Pratte et al, 2011).

En parallèle, nous avons pu montrer qu'un certain nombre de structures catécholaminergiques, périphériques et centrales étaient progressivement touchées chez ces mêmes souris, expliquant en parti les déficits mesurés in vivo (Viemari et al, 2005 ; Panayotis et al, 2011). Ces résultats sont particulièrement intéressants car des déficits bioaminergiques ont été observés par de nombreuses équipes chez les patientes RTT.

Plusieurs molécules utilisées dans le traitement de pathologies psychiatriques sont capables de moduler activement et sélectivement les systèmes bioaminergiques en agissant aux différents niveaux de leur voie métabolique (synthèse, dégradation, recapture, etc.) mais aussi des molécules capable d'agir indirectement (activation du support trophique).

A ce jour, plus de 10 molécules ont été évaluées par notre équipe et certaines d'entre elles ont permis d'améliorer partiellement les déficits de l'animal modèle.

Ainsi la désipramine, inhibiteur de recapture de la noradrénaline, permet de stabiliser la respiration durablement entrainant de fait une augmentation de la survie des souris modèles (un essai clinique en cours).

La L-Dopa, molécule antiparkinsonienne, améliore les déficits dopaminergiques entrainant par ailleurs quelques améliorations motrices sans toutefois modifier la courbe de survie.

La cystéamine, une molécule capable de stimuler le remplissage et la libération des vésicules de Bdnf améliore de manière significative la survie et la motricité de nos animaux.

Globalement, nos données montrent que moduler pharmacologiquement les systèmes bioaminergiques par des agents pharmacologiques déjà connus est une approche qui devrait pouvoir déboucher sur l'identification de molécules utilisables a court terme et capables d'agir sur les fonctions touchées dans le RTT et ainsi d'améliorer la vie quotidienne des personnes atteintes.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P634 - DETERMINISME GENETIQUE DU KERATOCONE CHEZ L'HOMME : ANALYSE DU TRANSCRIPTOME

GENETIC COMPONENT OF KERATOCONUS IN MAN : TRANSCRIPTOME ANALYSIS

M MACE (1), S GALLIACY (2), A ERRAUD (2), JE MEJIA (1), H ETCHEVERS (3), L DESJARDINS (4), M ALLOUCHE (2), F MALECAZE (2), P CALVAS (2)

1. CPTP, UMR INSERM UPS 1043, Toulouse, France
2. GR2DE, Université Paul Sabatier, Toulouse, France
3. UMR INSERM 910, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France
4. Ophtalmologie, Institut Curie, Paris, France

Le kératocône est une maladie oculaire génératrice de malvoyance sévère dont la prévalence se situe autour de 1/2000. Elle est caractérisée par la déformation et l'amincissement de la cornée. Dans les formes non syndromiques, de multiples arguments affirment une participation génétique. L'association de facteurs environnementaux est également démontrée. L'affection est considérée comme un trait complexe dont la physiopathologie reste obscure. Plusieurs locus ont été décrits issus d'analyses de liaison et d'association. Aucun gène, régulièrement impliqué dans le développement de la maladie n'a encore été identifié. Afin d'identifier les voies biologiques impliquées nous avons étudié l'expression différentielle des ARNm de cornées de Kératocône avec celles issues de contrôles.

L'ARN a été extrait de cornées de patients porteurs de Kératocône et de patients contrôles (mélanome du segment postérieur), prélevées dans les mêmes conditions. Les transcrits ont été quantifiés par hybridation sur des puces exoniques (GeneChip Affymetrix). Les gènes exprimés ou épissés de manière différentielle ont été recensés. L'identification des voies biologiques impliquées a été déduite des informations disponibles in silico sur la biologie des réseaux.

87 gènes ont démontré une différence significative des niveaux comparés de leur expression. 69 gènes montraient une réduction d'expression. Ils étaient plus particulièrement recrutés dans la voie du facteur de transcription AP-1. 18 gènes étaient surexprimés incluant des mucines, kératines et des gènes impliqués dans la prolifération fibroblastique. De plus 36 gènes, dont 9 parmi ceux ayant une modification du taux d'expression, avaient une modification différentielle d'épissage. L'analyse des réseaux impliqués suggère que la plupart des gènes mis en évidence appartiennent à des voies pro-apoptotique ou intervenant dans la régulation de la balance prolifération / différenciation cellulaire. Il s'agit de la première étude de l'intégralité du transcriptome de cornées de patients atteints de Kératocône. Les expressions différentielles constatées convergent pour définir un mécanisme de perte cellulaire dépendant d'un phénotype hypoprolifératif et proapoptotique qui pourrait être un mécanisme clé du Kératocône.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P635 - MODELES MURINS DE CMT4H PAR ABLATION CONDITIONNELLE DU GENE FGD4 DANS LES CELLULES DE SCHWANN ET DANS LES MOTONEURONES

C Esteve (1), C Castro (1), C Baudot (1), V delague (1)
1. UMR_S 910, Inserm/Université Aix-Marseille, Marseille cedex 05, France

La maladie de Charcot Marie Tooth est l'une des maladies neurologiques les plus fréquentes avec une prévalence de 1/2500. Au niveau clinique elle se caractérise par une faiblesse et une atrophie musculaire distales progressives prédominant au niveau des membres inférieurs. On observe aussi des déformations au niveau des mains et des pieds ainsi qu'une hypo- ou une aréflexie. On distingue 3 formes majeures : le CMT démyélinisant, le CMT axonal ainsi qui le CMT intermédiaire. Enfin, sur le plan génétique, tous les modes de transmission existent, et environ50 gènes ont, à ce jour, été identifiés.

Nous nous intéressons à la forme CMT4H, forme démyélinisante à transmission autosomique récessive, caractérisée par un début précoce et une progression lente, ainsi que des prolifération anormales de myéline à la biopsie nerveuse. En 2007, nous avons identifié FGD4 comme le gène responsable de cette forme de CMT. FGD4 code la protéine FRABIN (FGD1-related F-actin binding protein), une RhoGEF, connue pour activer les RhoGTPases Cdc42 et Rac1.

Afin d'explorer les mécanismes physiopathologiques, qui sous-tendent CMT4H, nous avons généré deux modèles murins d'inactivation conditionnelle du gène fgd4 (KO conditionnels). Dans le premier nous avons spécifiquement inactivé fgd4 dans les cellules de Schwann, dans l'autre fgd4 est inactivé dans les motoneurones. Nous disposons actuellement de souris porteuses d'un allèle floxé, que nous croisons avec des souris transgéniques exprimant la Cre-recombinase spécifiquement dans les cellules de Schwann ou dans les motoneurones, afin d'obtenir une descendance dans laquelle le gène fgd4 aura été excisé spécifiquement dans ces types cellulaires . Ces animaux feront l'objet d'explorations comportementales, histo-pathologiques, électrophysiologiques, cellulaires et moléculaires qui permettront de mieux appréhender les mécanismes physiopathologiques du CMT4H. D'autre part, ces deux modèles nous permettront d'étudier l'autonomie cellulaire des mécanismes physiopathologiques dans CMT4H. Nous présentons ici les résultats préliminaires de l'inactivation conditionnelle de fgd4 dans les cellules de Schwann, en particulier la vérification du Knock-Out dans le nerf périphérique par Western-Blot et immunofluorescence et les analyses histopathologiques au niveau du nerf sciatique.

La compréhension de la fonction de FGD4/FRABIN dans le nerf périphérique et ses relations avec d'autres protéines mutées dans CMT, permettra de mieux appréhender les causes de ces pathologies et à plus long terme de tester des solutions thérapeutiques.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P636 - ANALYSES MOLECULAIRES DES FAMILLES TUNISIENNES ATTEINTES DE DIVERSES FORMES DE LA MALADIE DE CHARCOT MARIE TOOTH

C Boubaker (1), N Martini (2), A Boyer (2), N Bonello-Palot (2), R Bernard (2), N Lévy (2), H Ben Cheikh (3), I Hsairi (4), C Triki (4), V delague (1)

1. UMR_S 910, Inserm/Université Aix-Marseille, Marseille cedex 05, France
2. Département de Génétique Médicale, AP-HM, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille cedex 05, France
3. Laboratoire d'Histologie de Cytologie et de Génétique, Université de Monastir, Monastir, Tunisie
4. Département de Neurologie Pédiatrique, Hopital Hédi Chaker, Université de Sfax, Sfax, Tunisie

Le taux de mariage consanguin en Tunisie, estimé à 32% [Ben M'rad. L et al. 2004] conduit, comme dans d'autres populations à fort taux de consanguinité, à l'augmentation de la prévalence des maladies héréditaires à transmission autosomique récessive. La maladie de Charcot-Marie-Tooth constitue l'une des maladies neurologiques les plus fréquentes, et se caractérise par une grande hétérogénéité génétique, avec une cinquantaine de gènes connus à ce jour, dont une quinzaine responsables de formes autosomiques récessives. En collaboration avec le service de neurologie pédiatrique de Sfax, nous avons pu identifier 20 familles présentant des patients atteints de CMT, dont 15 familles consanguines, avec transmission autosomique récessive.

En vue d'identifier le défaut moléculaire à l'origine de la pathologie dans ces familles, nous avons utilisé la stratégie suivante : (i) recherche des remaniements de grande taille par hybridation génomique comparative (CGH) sur des puces CGH dédiées, (ii) criblage des gènes connus par séquençage fluorescent direct, (iii) dans les familles qui le permettent, analyse de liaison et/ou séquençage à haut-débit. La stratégie utilisée nous a permis d'identifier le défaut moléculaire chez 4 patients : (i) une mutation homozygote c. 92G>A (Trp31X) dans GDAP1 chez un patient atteint de CMT4, issu d'union consanguine (ii) la duplication de 1.5 Mb au niveau de PMP22 chez deux patients pour lesquels le mode de transmission autosomique dominant était compatible (iii) une mutation homozygote c.514_515inG (.Ala172GlyfsX27) dans le gène FRABIN chez trois patients d'une famille consanguine atteints de CMT4.

Nous mettons actuellement en place des stratégies de criblage à haut-débit, avec notamment la mise au point d'une stratégie de capture et séquençage à haut-débit de 51 gènes mutés dans le CMT, ou, lorsque la structure des familles le permet, des stratégies de clonage positionnel par homozygotie par descendance couplées au séquençage à haut débit des régions candidates ; ou encore des séquençages à haut-débit d'exome. Ce travail constitue la première étude génétique du CMT dans le sud de la Tunisie.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P637 - UNE NOUVELLE MUTATION DANS LE GENE FGD4/FRABIN EST RESPONSABLE DE LA MALADIE DE LA MALADIE DE CHARCOT-MARIE-TOOTH DE TYPE 4H (CMT4H) DANS UNE FAMILLE TUNISIENNE CONSANGUINE.

C Boubaker (1), A Boyer (2), N Bonello-Palot (2), R Bernard (2), N Lévy (2), H Ben Cheikh (3), I Hsairi (4), C Triki (4), V delague (1)

1. UMR_S 910, Inserm/Université Aix-Marseille, Marseille cedex 05, France
2. Département de Génétique Médicale, AP-HM, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille cedex 05, France
3. Laboratoire d'Histologie de Cytologie et de Génétique, Université de Monastir, Monastir, Tunisie
4. Département de Neurologie Pédiatrique, Hopital Hédi Chaker, Université de Sfax, Sfax, Tunisie

CMT4H est une forme démyélinisante à transmission autosomique récessive de la maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 4H, caractérisée par un début précoce, une réduction sévère des vitesses de conduction nerveuses et des proliférations anormales de myéline à la biopsie [Sandre-Giovannoli. A et al. 2005].En 2007, nous avons décrit l'implication du gène FGD4 dans cette maladie, par la description de deux mutations dans deux familles consanguines [Delague. V et al.2007 ; De Sandre-Giovannoli. A et al. 2005]. FGD4 code pour FRABIN (FGD1-Related –F acting binding protein), une RhoGEF connue pour activer les petites RhoGTPases Cdc42 et Rac1. A l'heure actuelle, sept mutations sont décrites dans le gène. Dans le but d'identifier le défaut moléculaire chez trois patients tunisiens d'une famille consanguine, nous avons criblé la séquence codante du gène FGD4, ainsi que les jonctions intron-exon. Les patients présentent une forme sévère de CMT, avec un début précoce, une réduction sévère des vitesses de conduction nerveuse, et la présence d'une cyphoscoliose chez l'ensemble des atteints. Dans cette famille, le séquençage direct de FGD4 nous a permis d'identifier une nouvelle mutation homozygote chez les trois patients au niveau de l'exon 4. Il s'agit de l'insertion d'une base nucléotidique à la position 514 (c.514_515insG ; p.Ala172GlyfsX27). La mutation ségrége parfaitement au sein du pedigree et est absente d'une cohorte de 160 individus contrôles tunisiens. Cette variation entraine un décalage dans le cadre de lecture et l'apparition d'un codon stop, donc la production d'une protéine tronqué de 197 acides aminés (p.Ala172GlyfsX27). L'étude du profil d'expression de FRABIN par Western-Blot, dans des fibroblastes, a permis de mettre en évidence l'absence de la protéine chez le patient par rapport au contrôles, mettant en évidence une dégradation du transcrit muté par NMD.

Dans ce travail nous rapportant pour la première fois une mutation dans FGD4/FRABIN chez des patients tunisiens. Nous discutons la corrélation génotype-phénotype dans CMT4H.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P638 - DIFFERENTIATION OF DISEASE-SPECIFIC IPS CELLS INTO RETINAL PIGMENT EPITHELIUM FOR GENE THERAPY STUDIES

CREATION D'UN MODELE DE RETINE A PARTIR DE CELLULES IPS DE PATIENTS POUR DES ETUDES PRE-CLINIQUES DE THERAPIE GENIQUE

M Pequignot (1), N Cereso (1), L Robert (1), A Conscience (1), F Becker (2), J de Vos (2), C Hamel (1), V Kalatzis (1)
1. Inserm U1051, Institut des Neurosciences de Montpellier, Montpellier, France
2. Inserm U632, Institut de Recherche en Biothérapie, Montpellier, France

The retina is highly amenable to, and many retinal dystrophies ideal candidates for, gene therapy. The first such clinical trials were carried out in 2008 using an AAV vector with positive results. Consequently, the requirements for future preclinical studies of other diseases will be less stringent, notably concerning the need for large animal disease models. However, a growing number of diseases lack even an appropriate small model, compromising their chances of one day reaching a clinical trial. In such cases, a viable alternative would be to perform preclinical studies on human cellular models of the pathogenic retina.
As it is impossible to obtain retinal cells from a patient, the aim of our work is to generate iPS cells from skin fibroblasts of patients with a retinal dystrophy and differentiate these cells into retinal pigment epithelium (RPE). As a pilot project we are concentrating on the X-linked disease choroideremia that represents 2% of retinal dystrophies and is due to mutations in the CHM gene encoding the Rab escort protein 1 (REP1) protein; the mouse and zebrafish REP1-deficient models are lethal. We have obtained the first iPS clone of a choroideremia patient and have differentiated this clone into disease-specific RPE. This REP1-deficient RPE tissue now represents an invaluable tool for studying the pathophysiology of the disease in human cells and for evaluating the efficiency of gene therapy to restore a normal cellular phenotype. The use of such innovative human disease systems are more economical and less time-consuming alternatives to animal models, as well as more biologically relevant for further understanding disease pathogenesis and preclinical therapeutic studies.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P639 - PRESENTATION DE L'ETUDE ACTHYF : « EVALUATION DE L'EFFICACITE D'UN TRAITEMENT SYSTEMATIQUE PAR ACIDE FOLINIQUE ET HORMONE THYROÏDIENNE SUR LE DEVELOPPEMENT PSYCHOMOTEUR DU JEUNE ENFANT TRISOMIQUE 21 ».

C MIRCHER (1), Y GRATTAU (2), A RAVEL (1), N DORISON (1), MO RETHORE (1), S SACCO (2), E LANCEART (2), D de PREVILLE (2), F STURTZ (3)

1. Consultation, Institut Jérôme Lejeune, PARIS cedex 15, France
2. Recherche, Institut Jérôme Lejeune, PARIS cedex 15, France
3. Laboratoire de Biochimie et de Génétique Moléculaire, IFR n°145, GEIST, Université de Limoges, LIMOGES, France

Le métabolisme thyroïdien est primordial pour le développement du système nerveux central de l'enfant. Ce métabolisme semble constamment altéré chez le nouveau-né et le jeune enfant atteints de trisomie 21, qui ont une T4 à la limite basse associée à une TSH à la limite haute, et ce de la naissance jusqu'à 2 ans au moins. Par ailleurs, les folates, co-facteurs de nombreuses réactions biochimiques, ont un métabolisme perturbé chez les patients trisomiques 21.

ENTRAIN, une étude récemment publiée (PlosOne 2010, 5:e8394), portant sur la supplémentation systématique par acide folinique (AF) à la dose de 1 mg/kg/j pendant un an de jeunes enfants trisomiques 21, suggère un effet positif de l'AF sur le développement psychomoteur, mais sans preuve statistique sur l'analyse en intention de traiter (intent-to-treat). Une analyse per-protocol des résultats (patients évalués par le même psychologue au début et à la fin) suggère que le bénéfice potentiel du traitement par AF serait particulièrement net chez les patients traités simultanément par hormone thyroïdienne. Cette interaction positive n'était pas attendue et le plan de l'étude ne permettait pas d'en dire plus.

L'étude ACTHYF a pour objectifs d'évaluer, sur une période de un an, chez des enfants de 6 à 18 mois, porteurs d'une trisomie 21, l'efficacité d'un traitement par L-thyroxine (T4) à dose contrôlée, l'efficacité d'un traitement systématique par AF à la dose de 1 mg/kg/j et l'interaction éventuelle entre ces deux traitements. ACTHYF, est une étude de Phase III, monocentrique, en double aveugle, randomisée qui doit inclure 256 patients répartis en 4 groupes (T4, AF, T4 + AF, 2 placebo). Cette étude sera supervisée par un Comité de Surveillance indépendant. Cette étude, qui a reçu les autorisations réglementaires de l'AFSSAPS et du CPP, débutera les inclusions de patients en Janvier 2012.

Le critère principal d'efficacité est l'évaluation du développement psychomoteur par l'échelle de Griffiths (GMDS), échelle d'évaluation du développement psychomoteur validée internationalement, adaptée à la population concernée par cette étude et reconnue pour ses qualités métrologiques.

Des analyses biochimiques et génétiques complémentaires concernant le métabolisme des folates et le statut RedOx sont également prévues, ainsi qu'une analyse intermédiaire des résultats.

Efficacy assessment of systematic treatment with folinic acid and thyroid hormone on psychomotor development of Down Syndrome young children

Mots clés : trisomie 21, essai clinique, hormone thyroïdienne, acide folinique, développement psychomoteur

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P640 - IMPACT D'UNE SUREXPRESSION MODEREE DU GENE MECP2 SUR LES FONCTIONS COGNITIVES, MOTRICES ET AUTONOMES CHEZ LA SOURIS

R El Khoury (1), A Ghata (1), N Panayotis (1), V Matagne (1), L Villard (1), JC Roux (1)
1. Inserm UMR 910, Faculté de Médecine de La Timone, Marseille, France

Un dosage anormal du produit du gène Mecp2 (Methyl CpG-binding protein 2) cause un groupe de maladies neurologiques dont le point commun est une déficience intellectuelle sévère. Des mutations ou une délétion du gène Mecp2 sont à l'origine du syndrome de Rett chez les femmes, alors que sa surexpression provoque chez les garçons le syndrome de duplication du gène Mecp2. Une régulation fine de la quantité de protéine Mecp2 est donc nécessaire pour le fonctionnement normal des neurones. Après la description des premiers cas de duplication du gène Mecp2, le groupe de Huda Zoghbi a généré des souris transgéniques exprimant plusieurs copies du gène Mecp2 humain. Le phénotypage de ces souris, qui représentent un modèle d'une pathologie humaine, a été fait de manière superficielle (Collins et al, 2004 ; Chao et al, 2007). Dans le but de mieux appréhender l'effet dose du gène Mecp2 nous avons étudié les souris présentant un doublement de l'expression (Mecp2Tg1) afin de nous rapprocher des cas humains de duplication.
Afin de phénotyper ces souris dupliquées nous utilisons une batterie de tests comportementaux : grip strengh, rotarod, open field et profil respiratoire chez des souris Mecp2Tg1 au cours du développement postnatal. En parallèle de ces travaux in vivo, des dosages d'ARNm et protéiques sont réalisés dans différentes parties du système nerveux sur des facteurs neuronaux clé, dont la régulation est fortement dépendante du dosage Mecp2 (tyrosine hydroxylase, enzyme limitant de la synthèse des cathécholamines et BDNF, brain derived neurotrophic factor).
Nos résultats préliminaires montrent que les souris Mecp2Tg1 présentent des troubles comportementaux importants marqués par un effet biphasique. A partir de 5 semaines, les souris apparaissent hyperactives pour certains tests alors que bien plus tard (à partir de 35 semaines) un certain nombre de ces souris présentent un comportement moins actif que celui des souris contrôles, suivi pour certaine d'entre elles de l'apparition de convulsions et de mort subite. Les implications cliniques de notre étude sont doubles : 1) nous cherchons à comprendre les effets phénotypiques d'un doublement de dose de Mecp2 en parallèle de nos travaux portant sur la souris Mecp2 KO; 2) de nombreux projets de thérapie génique sont en cours d'évaluation sur des modèles murins de souris Mecp2 déficientes. Etant donné que le niveau de MeCP2 doit être strictement régulé, des adaptations des stratégies de thérapie seront nécessaires afin de ne pas surdoser la protéine Mecp2 et éviter le passage d'un sous dosage à un surdosage tout aussi délétère.

Chao, H. T., et al., 2007. Neuron. 56, 58-65.
Collins, A. L., et al., 2004. Hum Mol Genet. 13, 2679-89.
Van Esch, H., et al., 2005. Am J Hum Genet. 77, 442-53.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P641 - LATERALITE ET COGNITION: APPORTS DE LA COMPARAISON ENTRE PATIENTS PORTEURS D'ANOMALIES GENETIQUES (TRISOMIE 21, DELETION 17Q11.23, DELETION 22Q11.2)

M Carlier (1), A Doyen (2), N Philip (3), A Swillen (4)

1. Psychologie cognitive UMR6146 CNRS, Aix-Marseille Université, Marseille, France
2. IUFM, IUFM Centre Val de Loire-Université d'Orléans, Orléans, France
3. INSERM U910, Génétique Médicale, Génomique Fonctionnelle, Aix-Marseille Université, Marseille, France
4. Center for Human Genetics, Université Leuven, Leuven, Belgique

Voici plus de cinquante ans qu'une latéralité atypique a été décrite chez des personnes présentant une déficience intellectuelle avec une fréquence plus élevée de non droitiers et/ou de droitiers mixtes dans ces populations. Deux hypothèses ont été émises pour interpréter cette co-occurrence. Soit la latéralité atypique est la conséquence de la déficience intellectuelle, soit elle est due aux effets secondaires de particularités neuroniques présentes chez ces personnes. Pour tenter de trancher entre ces deux hypothèses, nous avons comparé la latéralité (main, pied, œil) chez trois groupes de patients présentant une maladie génétique distinctes: la trisomie 21 (souvent désignée sous le vocable syndrome de Down), la délétion 17q11.23 (syndrome de Williams-Beuren) et la délétion 22q11.2 (syndrome de DiGeorge ou Vélo cardio-facial). Ces groupes diffèrent, non seulement par l'origine génétique de la maladie, mais aussi par leur phénotype (aussi bien au niveau comportemental que neurologique). Le nombre de participants est respectivement : 32, 32, 21. Un quatrième groupe est constitué de personnes au développement typique (36). Le sexe ratio ne diffère pas entre les quatre groupes. L'étendue des âges se situe entre 7 et 44 ans. La limite inférieure de 7 ans a été choisie dans la mesure où la littérature sur le développement de la latéralité a montré qu'à partir de cet âge la latéralité est bien établie. Comme attendu, le niveau intellectuel moyen (QI) diffère entre les groupes de patients avec la hiérarchie suivante : T21 < délétion 17q11.23 < délétion 22q11.2. La mesure de la latéralité s'est effectuée à travers deux outils : 1) l'observation d'actions (15 actions) réalisée deux fois afin de mesurer la stabilité de la réponse, 2) la passation d'une épreuve de ramassage de cartes. Les résultats montrent que pour la plupart des indicateurs de latéralité, on observe la même hiérarchie entre les groupes que pour les niveaux intellectuels. On conclut en faveur de l'hypothèse d'une latéralité atypique liée à un niveau général cognitif faible plutôt qu'à des caractéristiques spécifiques des syndromes.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P642 - LE BEZAFIBRATE CORRIGE IN VITRO LES DEFICITS DE LA CHAINE RESPIRATOIRE RESULTANT DE MUTATIONS DU COMPLEXE I DE L'ADN MITOCHONDRIAL.

J WONG (1), D CHRETIEN (1), Z ASSOULINE (1), V SERRE (1), L NONNENMACHER (2), S MONNOT (1), A ROTIG (1), P DE LONLAY (1), AS LEBRE (1), M RIO (1), A MUNNICH (1), J STEFFANN (1), JP BONNEFONT (1), S GOBIN-LIMBALLE (1)
1. Université Paris Descartes, INSERM U781 et Département de Génétique, Hôpital Necker, Paris, France
2. Unité de Biochimie métabolique, Hôpital Necker, Paris, France

Les déficits constitutionnels de la chaîne respiratoire (CR) mitochondriale peuvent résulter de mutations de l'ADN nucléaire ou ADN mitochondrial (ADNmt). Les mutations de l'ADNmt sont héritées de la mère avec un risque élevé de transmission. Les mitochondriopathies présentent une très grande hétérogénéité phénotypique, qui dépend à la fois du taux de mutation (ou taux d'hétéroplasmie) et de sa distribution tissulaire. A ce jour, il n'existe pas d'approche thérapeutique efficace pour ces déficits. Dans cet objectif, nous avons étudié l'effet potentiel du bézafibrate (BZF), un agoniste des facteurs de transcription PPAR, capable d'activer de la voie de régulation de la biogenèse mitochondriale via NRF1 et PGC1alpha. Une étude récente a montré que le traitement par cette drogue de cybrides porteurs d'une mutation homoplasmique des gènes mitochondriaux des tRNA permet d'améliorer l'activité de la CR. Cependant, il n'existe aucune donnée concernant des cellules primaires de patients avec des mutations de l'ADNmt codant pour des sous-unités de la CR.

Nous avons analysé l'effet du BZF sur l'activité de la CR à partir de fibroblastes en culture de 4 témoins, de 2 patients porteurs d'une mutation de l'ADNmt affectant le complexe 1 (CI, m.13514A>G de la sous-unité ND5) et de 3 patients porteurs d'une mutation affectant le complexe 5 (CV, m.8993T>G [n=2] ou m.9185T>C [n=1] de la sous-unité ATP6). Les fibroblastes CI étaient hétéroplasmiques (25% et 50% de mutation), alors que les fibroblastes CV étaient homoplasmiques mutés.

Le traitement des fibroblastes par le BZF 1/ n'induit pas d'élévation du taux de lactate dans le milieu de culture, ce qui constituerait une contre-indication à l'utilisation thérapeutique de cette drogue et 2/ augmente significativement l'activité enzymatique déficitaire chez les patients CI alors qu'il est sans effet chez les patients CV.

Cet effet favorable du BZF chez les patients CI est médié par une augmentation considérable du taux de transcrits mitochondriaux (≥300%) qui résulte d'une activation 1/ de la réplication de l'ADNmt, dont témoignent l'augmentation du nombre de copies de l'ADNmt (+75% à +100%) et du taux d'ARNm de l'ADNpolG (>400%), 2/ de la transcription de l'ADNmt dont témoigne l'augmentation du taux des transcrits nucléaires PGC1alpha, NRF1 et TFAM (+100% à +1000%) impliqués dans la régulation de la transcription de l'ADNmt.

L'absence d'effet du BZF sur l'activité enzymatique des patients CV, malgré une augmentation significative du taux de transcrits mitochondriaux (>100%) est vraisemblablement lié à la situation d'homoplasmie des mutations ATP6.

Ces données indiquent que le BZF 1/ est une drogue candidate pour le traitement des patients porteurs d'une mutation du CI à l'état hétéroplasmique et 2/ n'est pas indiqué chez les patients porteurs d'une mutation du CV à l'état homoplasmique.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P643 - PHYSIOPATHOLOGIE DE L'ATTEINTE CARDIOVASCULAIRE DANS LES HYPERHOMOCYSTEINEMIES : IMPLICATION DE L'ADENOSINE

A Fabre Chalancon (1), M Gastaldi (2), R Calaf (2), A Cano (3), K Mazodier (4), JL Bonnet (5), B Chabrol (3), R Guieu (6)

1. Laboratoire de biologie médicale, Hôpital d'Aubagne, Aubagne, France
2. Biochimie des maladies métaboliques, Hôpital de la Timone, Marseille, France
3. Centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme, Hôpital de la Timone Enfant, Marseille, France
4. Centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme, Hôpital de la Timone, Marseille, France
5. Service de cardiologie, Hôpital de la Timone, Marseille, France
6. Biochimie des maladies métaboliques, Hôpital de la Timone, Timone, France

Introduction : l'hyperhomocystéinémie est associée à une augmentation du risque cardiovasculaire. Les causes de l'hyperhomocystéinémie sont variables (alimentaire, insuffisance rénale, génétique avec des patients ayant des déficits héréditaires des enzymes du cycle de la méthionine/homocystéine, des variants de MTHFR et autres déficits héréditaires du métabolisme des folates et aussi des cobalamines). Le mécanisme pathogène est incomplètement compris. Le métabolisme de l'homocystéine est celui de l'adénosine sont reliés par le cycle de la méthionine. Nous avons émis l'hypothèse qu'une partie du mécanisme pathogène de l'hyperhomocystéinémie était causée par une élévation des taux plasmatiques de l'adénosine.

But : évaluer s'il existe une corrélation entre les taux plasmatiques d'adénosine et homocystéine.

Matériel et méthode : Nous avons évalué 3 cohortes. Une cohorte de témoins, une cohorte de patients hospitalisés en cardiologie pour une angioplastie et une cohorte de patients ayant un déficit en cystathionine beta synthase (CBS). Nous avons exclu les patients ayant une cause non héréditaire d'une élévation de l'adénosine et de l'homocystéine (insuffisance rénale, inflammation, déficit vitaminique, hypercholestérolémie, hypertension).

Résultat : Nous avons inclus 24 témoins, 36 patients coronariens (dont 16 avec une hyperhomocystéinémie) et 3 patients ayant un déficit héréditaire en CBS. Une corrélation entre les taux plasmatiques d'homocystéine et d'adénosine a été mise en évidence pour les patients coronariens ayant une hyperhomocystéinémie (test de Pearson $p = 0.0064$ et $r = 0.6497$). Par contre il n'a pas été mis en évidence de corrélation pour la population de témoin et pour la population de patients coronariens avec une homocystéine normale. Il est possible que cette corrélation ne s'exprime qu'au-delà d'un certain seuil en raison de la demi-vie très courte de l'adénosine dans la circulation sanguine. Il est également possible que les effectifs de nos cohortes soient trop faibles : sur la population témoins + patients coronariens soit 60 personnes nous retrouvons une corrélation positive (test de Pearson $p = 0.0111$ et $r = 0.3255$). Paradoxalement les patients CBS ont présenté des taux normaux d'adénosine, ce qui peut faire évoquer la possibilité d'autres voies de régulation chez ces patients.

Conclusion : Nous avons mis en évidence une corrélation positive entre les taux plasmatiques d'homocystéine et d'adénosine chez les patients coronariens ayant une hyper-homocystéinémie modérée. Ce résultat est à confirmer, mais pose la question de l'implication d'une hyperadénosinémie dans les accidents cardiovasculaires.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P644 - QUELS MODELES POUR L'ETUDE DE LA PHYSIOPAYHOLOGIE DE LA MALADIE DE CHARCOT-MARIE-TOOTH DE TYPE AR-CMT2A

S Rabarimeriarijaona (1), Y Poitelon (1), S Kozlov (2), J Devaux (3), JM Vallat (4), P Roubertoux (1), CL Stewart (5), N Lévy (6), V delague (1)

1. UMR_S 910, Inserm/Université Aix-Marseille, Marseille cedex 05, France
2. Cancer and Developmental Biology Laboratory, National, Cancer Institute–Frederick, Frederick, USA
3. Département de Signalisation Neuronale, CNRS/Université de la Méditerranée/Université Paul Cézanne, Marseille, France
4. Service et Laboratoire de Neurologie, CHU de Limoges, Limoges, France
5. Institute of Medical Biology, Immunos, Singapour, Singapour
6. Département de Génétique Médicale, AP-HM, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille cedex 05, France

Les Lamines, protéines ubiquitaires appartenant à la famille des filaments intermédiaires, sont les principales constituants de la lamina nucléaire, un réseau filamenteux accolé à la face interne de la membrane nucléaire. Les Lamines de type A, dont les deux isoformes majeures sont les Lamines A et C, sont codées par le gène LMNA, placé sous le contrôle du complexe transcriptionel AP-1. Onze pathologies ont été, à ce jour, associées à des mutations dans le 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 AR-CMT2A, polyneuropathie périphérique axonale à transmission autosomique récessive est l'une de ces Laminopathies : elle est due à la mutation c.892C>T dans l'exon 5 du gène LMNA (c.893C>T; p. Arg298Cys) (De Sandre-Giovannoli,A. 2002). Cette mutation est actuellement la seule, au sein du gène LMNA, à provoquer une neuropathie de façon isolée.

Afin de comprendre les mécanismes physiopathologiques qui sous-tendent AR-CMT2A, nous avons tout d'abord étudié un modèle murin Knock-In pour la mutation p.Arg298Cys. En dépit d'explorations étendues (comportement, histopathologie, électrophysiologie), nous n'avons pu mettre en évidence aucun phénotype identifiable. Cependant, au niveau moléculaire, nous avons pu mettre en évidence une dérégulation du gène Lmna dans tous les tissues testés. L'étude de modèles cellulaires a confirmé cette dérégulation et a permis de proposer un modèle hypothétique dans lequel la mutation p.Arg298Cys dans l'exon 5 induirait des pertes d'interaction avec des protéines à leucine-zipper, probablement des facteurs de transcription. Compte-tenu de l'absence de phénotype du modèle KI, et de la disponibilité d'un modèle KO Lmna-/- de dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss (Sullivan, T., D. Escalante-Alcalde, et al. 1999), présentant des anomalies du nerf sciatique (De Sandre 2002), nous avons décidé de rechercher les éventuels partenaires des lamines de type A dans ce modèle .Pour ce faire, nous étudions les nerfs sciatiques et la moelle spinale de ces modèles en associant une exploration histologique par microscopie électronique, une exploration électrophysiologique et une étude transcriptomique. L'étude transcriptomique est réalisée en triplicat en comparant séparément 3 groupes de 10 animaux KO à 3 groupes de 10 animaux WT, tant pour le nerf sciatique, que pour la moelle spinale; le but étant d'identifier éventuellement des candidats qui pourraient être dérégulés dans le nerf périphérique et/ou la moelle spinale, et donc d'apporter des éléments d'explications quant à la spécificité du phénotype neuropathique liée à un défaut de la lamine.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P645 - DEUX NOUVELLES MUTATIONS DANS LE GENE FGD4 CAUSENT LA MALADIE DE CHARCOT-MARIE-TOOTH DE TYPE 4H

C Baudot (1), C Esteve (1), C Castro (1), Y Poitelon (1), S Stora (2), C Mas (1), T Hamadouche (3), M Tazir (4), M El-Rajab (5), N Lévy (6), A Mégarbané (7), V delague (1)

1. UMR_S 910, Inserm/Université Aix-Marseille, Marseille cedex 05, France
2. Institut Jérôme Lejeune, Institut Jérôme Lejeune, Paris, France
3. Laboratoire de Neurosciences, Univsersité d'Algers, Algers, Algérie
4. Service de Neurologie, CHU Mustapha, Algers, Algérie
5. Service de Pédiatrie, Hopital Makassed, Beyrouth, Liban
6. Département de Génétique Médicale, AP-HM, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille cedex 05, France
7. Unité de Génétique Médicale, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban

La maladie de Charcot-Marie-Tooth est un groupe de neuropathie périphérique héréditaire sensitivo-motrice, très hétérogène tant sur le plan clinique que génétique. Elles sont caractérisées par une faiblesse musculaire, des déformations des pieds et des mains ainsi que des altérations électrophysiologiques. La forme CMT4H est une forme autosomique récessive démyélinisante, caractérisée par un début précoce, une progression lente, fréquemment associée à des scolioses. A la biopsie nerveuse, nous pouvons observer des bulbes d'oignons, caractéristiques des formes démyélinisantes, ainsi que des repliements anormaux des feuillets de myéline, anomalies retrouvées dans les formes CMT4B. En 2007, nous avons identifié le gène responsable de la forme CMT4H : il s'agit du gène FGD4 codant pour la RhoGEF FRABIN. A l'heure actuelle, sept mutations dans ce gène sont décrites dans ce gène.

Nous avons séquencé le gène FGD4 dans une cohorte de 101 patients atteints de formes de CMT autosomiques récessives démyélinisantes. Durant cette étude, nous avons caractérisé deux nouvelles mutations homozygotes faux-sens dans deux familles consanguines : p.Met566Ile dans une famille libanaise et une p.Arg442His dans une famille algérienne.

Tous les patients caractérisés depuis 2007 présentent un début précoce ainsi qu'une progression lente de la pathologie. Cependant, nous pouvons observer une grande variabilité sur certains critères tels que les déformations osseuses (scolioses) ou encore la sévérité de l'atteinte. De plus, nous ne pouvons pas remarquer de corrélation génotype / phénotype dans cette pathologie.

Cette étude permet d'agrandir le spectre des mutations dans FGD4. Nous discutons aussi de l'hétérogénéité clinique, et de l'absence de corrélation génotype / phénotype.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P646 - APO E ALLELES IN ALGERIAN MULTIPLE SCLEROSIS PATIENTS
LES ALLELES DE L`APOE CHEZ DES PATIENTS ALGERIENS ATTEINTS DE SCLEROSE EN PLAQUES

Y sifi (1), K Sifi (2), N Abadi (3), C Benlatreche (4), A Hamri (5)

1. Service de Neurologie Laboratoire de biologie et de génétique moléculaire de la faculte de Medecine Universte de Constantine MC et du CHU de Constantine, CHU Benbadis de Constantine, Constantine, Algérie
2. Laboratoire de Biochimie Laboratoire de biologie et de génétique moléculaire faculté de Médecine universite de Constantine Algérie, CHU Benbadis de Constantine, Constantine, Algérie
3. Laboratoire de biochimie Laboratoire de biologie et de génétique moléculaire Faculté de Médecine Université de Constantine Algérie, CHU Benbadis de Constantine, Constantine, Algérie
4. Laboratoire de biochimie Laboratoire de biologie et de génétique moléculaire Faculté de Médecine Université de Constantine Algérie, CHU Benbadis de Constantine, Constantine, Algérie
5. Service de neurologie Laboratoire de biologie et de génétique moléculaire de la faculte de Medecine de l'université de Constantine, CHU Benbadis de Constantine, Constantine, Algérie

Introduction

Apolipoprotein E (APO E) is an ubiquitary apolipoprotein involved in the metabolism of cholesterol, Recently, APO E allele distribution has been investigated in multiple sclerosis (MS), And an association between the course of MS and the APOE e4 allele was found.

The aim of our study was to explore the relationship between APOE polymorphism and susceptibility to,and clinical phenotypes of, MS among Algerian Arab subjects.

Patients and methodes

Eighty nine individuals (28 male and 61 female, mean age 37, 56 ± 10,04 years) with sporadic MS and 250 healthy controls (100 male, 150 female, mean age 38,45± 9,32 years) were included in our study.

The diagnosis of MS was made according to Mc Donald et al 2001.

APOE genotypes were determined in all the subjects (patients and controls) by validated PCR methods.

Results

At diagnosis the mean age was 37, 56 ± 10, 04 years. The most common presenting symptoms were unilateral visual loss or blurring (18 %), numbness and paraesthesiae of legs, arms, face, and/or multiple sites (24.71%), diplopia (2,2 %), and unsteadiness of gait and/or ataxia (10.11%). The disease course was classified as relapsing–remitting (78, 8 %) and` relapsing–progressive (12,5 %).

Homozygous E3 was the most frequent genotype (75, 3%). One patient (1, 1 %) and 2 control subjects were homozygous for E4. There were no significant differences in allele frequencies between patients and controls, although there was a trend towards lower E2 frequency in the patients (p=0.08), additionally, there was no difference in frequencies in E4 between patients and controls.

Discussion

Recently, APO E polymorphism has been investigated in MS patients and an association emerged between the APO E 4 allele and a more rapid progression of disability

in MS. In the present study the APO E genotype frequency distribution in multiple sclerosis population analysed was not significantly different from controls population.

Conclusion

The relationship between APOE polymorphism and susceptibility to MS and its clinical phenotype is controversial

keywords:ApoE,Multiple Sclerosis

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P647 - LE CENTRE DE RESSOURCES BIOLOGIQUES BIOJEL (CRB-BIOJEL) : UN ATOUT POUR LA RECHERCHE SUR LES DEFICIENCES INTELLECTUELLES D'ORIGINE GENETIQUE. / CRB-BIOJEL : AN ASSET FOR RESEARCH ON THE GENETIC INTELLECTUAL DISABILITIES.

S Stora (1), C du Boispéan (2), A Michaud (3), AC Gillart (4), C d'Astorg (4), C Mircher (4), A Ravel (4), N Dorison (4), M Conte (4), M Muir (4), MO Réthoré (4), A Mégarbané (5)
1. CRB-BioJeL, Institut Jérôme Lejeune, Paris, France
2. Recherche, Institut Jérôme Lejeune, Paris, France
3. Qualité, Institut Jérôme Lejeune, Paris, France
4. Consultation, Institut Jérôme Lejeune, Paris, France
5. Unité de Génétique Médicale, Faculté de Médecine de l'Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban

A l'issue de travaux menés au niveau mondial par l'Organisation de coopération et de développement économique (OCDE) et avec l'évolution de la législation et de la réglementation, les activités de mise en place de collections et d'échanges de ressources biologiques se sont professionnalisées entraînant la mise en place de Centres de Ressources Biologiques (CRB). Il s'agit de structures spécialisées dans l'acquisition, la validation, l'étude et la distribution de collections d'organismes cultivables (cellules microbiennes, végétales, animales et humaines), de parties réplicables de ces organismes (génomes, plasmides, banque d'ADN) et d'organismes viables mais non encore cultivables. (Définition du groupe de travail de l'OCDE).
Ainsi, les Centres de Ressources Biologiques composent une infrastructure de recherche et constituent un élément essentiel de la recherche sur la personne, selon le terme consacré dans les textes législatifs, c'est à dire de la recherche biomédicale, qu'elle soit fondamentale, appliquée ou translationnelle. Ils en sont les dépositaires et les gestionnaires des outils majeurs: les collections d'échantillons biologiques et les données qui y sont associées.

Depuis décembre 2008, le Centre de Ressources Biologiques BioJeL (CRB-BioJeL) s'inscrit dans cette démarche et en étroite collaboration avec le service de consultation de l'Institut Jérôme Lejeune, il a mis en place 5 collections regroupant plus de 2000 ressources (ADN, plasmas, lignées lymphoblastoïdes, lymphocytes primaires) de patients atteints de déficience intellectuelle d'origine génétique (trisomie 21, XFragile, retards inexpliqués, Di Georges,…)
Certifié par l'AFNOR conforme aux exigences de la norme NF S 96-900, le CRB-BioJeL propose des services de haute qualité de biobanque et se veut être un outil et un atout pour la recherche sur la déficience intellectuelle d'origine génétique.
Membre du club 3C-R et inscrit au réseau BBMRI (Biobanking and Biomolecular Resources Research infrastrucure), le CRB-BioJeL cherche à s'inscrire dans un réseau de CRB afin de faciliter l'accès aux ressources biologiques et dynamiser la recherche sur cette thématique.

Le CRB-BioJeL en quelques chiffres :
-5 collections :
Trisomie 21,
Retard Mental Inexpliqué,
Autres anomalies chromosomiques,
Autres retards mentaux, Témoins.
-2000 ressources biologiques comprenant :
500 lignées lymphoblastoïdes
400 échantillons de lymphocytes primaires
700 échantillons d'ADN
400 plasmas
Le catalogue des ressources biologiques mises à disposition est consultable sur le site internet du CRB. Le dossier de demande est téléchargeable en ligne.
Site internet : www.crb-institutlejeune.com , Nous contacter : biojel@institutlejeune.com
Mots-clés : CRB, NF S 96-900, Déficience intellectuelle d'origine génétique.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P648 - EFFETS DE LA DEFICIENCE EN IL6 ET DE L'HYPERCHOLESTEROLEMIE SUR LA SURVIE DU GREFFON ET SUR L'ALLOREPONSE IMMUNITAIRE.

N Blaes (1), M Thomsen (1), H Yacoub-Youssef (2)

1. Inserm U858, Institut de Médecine Moléculaire de Rangueil, Toulouse, France
2. Unité de Recherches sur les maladies orphelines d'origine génétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie

Keywords : IL6 deficiency, Hypercholesterolemia, graft rejection, immune alloresponse

Effects of IL6 deficiency and hypercholesterolemia on graft survival and immune alloresponse.
Background: Chronic rejection is the major obstacle to long-term survival of vascularized organs after allotransplantation. It occurs, almost always, by the obstruction of the lumen of the vessels in the grafts. Very rare cases of organ chronic rejection showed parenchymal fibrosis and no vascular changes. Thus, chronic rejection is rather described as chronic vascular rejection (CVR). The CVR is characterized by an intimal thickening in the arteries of allografts due to immunoinflammatory reactions and smooth muscle cell proliferation. Interleukin 6 (IL6) levels are increased in patients with graft rejection, however the role of IL6 deficiency in CVR is not known. In addition hypercholesterolemia, a risk factor for vascular diseases, is frequently observed after organ transplantation. Hypercholesterolemia spontaneously develops in apolipoprotein (ApoE) deficient mice. We investigated the immune-response and its polarization after aortic transplantation in mice deficient for IL6 (IL6-/-), for ApoE (ApoE-/-) and for both (IL6-/-ApoE-/-).
Methods: Donor aortas from wild-type DBA/2 mice were transplanted into C57BL/6 recipients, either wild-type mice or (IL6_/_), (ApoE_/_), and (IL6_/_ApoE_/_) mice. Alloantibody titers were determined at Day 30, 60, and 90 after grafting. The grafts were examined for CVR lesions by morphometry and immunohistology.
Results: All recipient allografts displayed lesions typical for CVR. The lesions were larger in IL6 deficient strains, and significantly so in IL6_/_ApoE_/_ recipients. Early immunoglobulin (Ig) G1 alloantibody deposits were observed in the grafts of ApoE-/- strains and late IgG2a deposits in the grafts of IL6-/- strains. A rapid and sustained type 1 helper T cell (Th1; IgG2a) alloresponse in IL6_/_ mice, and a strong type 2 helper T cell (Th2; IgG1) response in ApoE_/_ mice were observed. IL6_/_ApoE_/_ mice displayed the highest alloantibody titer, with Th1 dominance.
Conclusion: Unexpectedly, IL6 deficiency in the recipient mice did not prevent CVR lesions but even aggravated them especially in a situation of hypercholesterolemia in IL6_/_ApoE_/_ recipients. This was associated with increased local and systemic Th1 alloresponses.Possible IL6 protection mechanisms against CVR have to be taken into account for the therapeutic strategies that target IL6 to prevent graft rejection.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P649 - DES CORPS NUCLEAIRES PML FILAMENTEUX CONTIENNENT LA PROGERINE DANS LES FIBROBLASTES DE PATIENTS ATTEINTS DE PROGERIA

A De Sandre-Giovannoli (1), D Depetris (1), K Harhouri (1), N Lévy (1), MG Mattei (1), C Navarro (1), M Bartoli (1), P Cau (2)

1. Aix-Marseille Université, Inserm UMR_S 910, Faculté de Médecine de Marseille, 13385 Marseille cedex 05, France., Faculté de Médecine, Marseille, France

2. Aix-Marseille Université, Inserm UMR_S 910, Faculté de Médecine de Marseille, 13385 Marseille cedex 05, France, Faculté de Médecine, Marseille, France

Le syndrome Progéria de Hutchinson-Gilford (HGPS) est une maladie génétique très rare caractérisée par un vieillissement prématuré et accéléré. Ce syndrome résulte d'une mutation dans le gène LMNA codant pour les lamines A et C. Cette mutation induit l'activation d'un site cryptique d'épissage produisant une forme tronquée de la prélamine A appelée progérine. Les lamines A et C, avec les lamines de type B, sont les principaux composants de la lamina nucléaire. Les lamines A et C sont également situées dans le nucléoplasme formant la matrice nucléaire qui assure la stabilisation de complexes protéiques impliqués dans diverses fonctions nucléaires.

Dans les cellules de patients atteints de Progeria, l'accumulation de progérine affecte l'organisation de l'enveloppe et de la matrice nucléaire, ayant pour conséquence des altérations remarquables de la morphologie nucléaire.

Une classe de corps nucléaires, les PML-NBs (ProMyelocytic Leukemia-Nuclear Bodies), majoritairement organisés par la protéine PML, sont particulièrement intéressants dans le cadre de notre étude sur les mécanismes patho-physiologiques de la Progeria. En effet, les PML-NBs sont des structures nucléaires, généralement de forme sphérique, décrites comme étant étroitement associées à la matrice nucléaire. Ils sont impliqués dans de nombreux processus cellulaires, y compris la régulation transcriptionnelle, la réponse aux dommages à l'ADN, et le remodelage de la chromatine. Les PML-NBs ont également un rôle dans le déclenchement de la sénescence cellulaire.

Le phénotype cellulaire altéré qui caractérise les cellules des patients atteints du syndrome HGPS, ainsi que leur sénescence prématurée en culture, nous a conduit à analyser l'organisation des PML-NBs et la distribution des protéines PML dans des coupes de foie de souris knock-in homozygotes (Osorio et al., 2011). Dans les noyaux cellulaires de ces souris, nous avons mis en évidence, par immunofluorescence, des agrégats de PML-NBs dont la taille et le marquage étaient plus importants que ceux observés chez les souris WT Lmna+/+. Par ailleurs, en utilisant la même approche sur les fibroblastes cultivés de trois patients HGPS, nous avons observé que : (1) la protéine PML forme dans un certain nombre de noyaux des structures anormales, d'abord de type « ring-like » et progressivement de type filamenteux, dont le nombre augmente avec le nombre de passages en culture; (2) Dans les structures filamenteuses, PML est associée à ses protéines partenaires physiologiques SP100, SUMO-1, HP1, ATRX et DAXX; (3) Par microscopie confocale, nous avons établi que ces structures filamenteuses intra-nucleoplasmiques contiennent les lamines B1/B2 ainsi que la progérine, pouvant constituer un lieu de stockage/séquestration de la protéine toxique et de ses hétérodimères (4) Enfin, la présence de polyubiquitine au sein des structures filamenteuses PML-positives suggère leur implication dans la dégradation des protéines via le système du protéasome.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P650 - ANOMALIES DES FONCTIONS ET DE LA DYNAMIQUE MITOCHONDRIALES CHEZ DES PATIENTS SPG31

C Goizet (1), G Benard (2), E Giraud (2), J Pilliod (1), G Sole (3), I Coupry (1), S Forlani (4), A Durr (1), A Brice (4), D Lacombe (1), G Stevanin (4), R Rossignol (2)

1. Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme (MRGM), EA4576, Université Bordeaux, Bordeaux, France
2. Laboratoire Maladies Rares: Génétique et Métabolisme (MRGM), EA4576, Université Bordeaux, Bordeaux, France
3. Service de Neurologie, CHU Bordeaux, Pessac, France
4. INSERM, UPMC U679, ICM, Hopital de la Salpétrière, Paris, France

Objective

To decipher the pathophysiological mechanisms involved in SPG31 determinism.

Background

Hereditary spastic paraplegias (HSP) constitute a heterogeneous group of neurodegenerative disorders characterized at least by slowly progressive spasticity of the lower limbs. Mutations in REEP1 were recently associated with SPG31, a pure dominant HSP. We recently identified 12 different heterozygous mutations in REEP1 by screening 175 unrelated HSP index patients from kindreds with dominant inheritance (AD-HSP), associated with either a pure or a complex phenotype.

Design/Methods:

We performed analyses on primary cultures of fibroblasts in 5 patients from 2 unrelated SPG31 families. In family 1 (one patient), the mutation c.103delG, p.Val36SerfsX4 was identified in exon 3 of REEP1. In family 2 (4 patients), the mutation c.124T>C, p.Trp42Arg was identified in exon 3 of REEP1.

Results:

We evidenced abnormal mitochondrial network organization in fibroblasts of all patients from two SPG31 families in addition to defective mitochondrial energy production in both fibroblasts and muscle. The localization of some mitochondrial proteins appeared dramatically impaired in all the fibroblasts studied.

Conclusions:

The alteration of mitochondrial morphogenesis seems correlated to the type of mutation. Studies of potential partners of REEP1 highlight the crucial role of mitochondrial fusion-fission balance in the pathogenesis of SPG31 and suggest a direct involvement of mitochondrial dysfunction in this neurodegenerative condition.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P651 - LE TRAITEMENT L-ARGININE REDUIT LE DEFICIT ENERGETIQUE DANS UN MODELE DE TYPE NEURONAL REPRODUISANT LE SYNDROME MELAS

V. Desquiret-Dumas[1,2], N. Gueguen[1,2], M. Barth[1], A. Chevrollier[1,2], S. Hancock[3], D. Wallace[3], P. Amati-Bonneau[1,2], D. Henrion[2], D. Bonneau[1,2], P. Reynier[1,2], V. Procaccio[1,2]

1.Département de Biochimie et Génétique, CHU Angers, Angers, France

2.Laboratoire de Biologie Mitochondriale et NeuroVasculaire Intégrée, UMR INSERM U771-CNRS 6214, Université d'Angers

3.Centre for Mitochondrial and Epigenomic Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA

Les maladies mitochondriales sont des maladies métaboliques liées à un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale. La mitochondrie possède son propre ADN mitochondrial (ADNmt) de transmission maternelle et la coexistence de plusieurs ADNmt différents au sein d'une même cellule, définie le phénomène d'hétéroplasmie mitochondriale. L'expression phénotypique au niveau cellulaire et la sévérité de la pathologie vont dépendre en grande partie des proportions d'ADN normal et muté.

Affection de l'enfance, le syndrome neurologique de MELAS (Myopathy Encephalopathy Lactic Acidosis and Stoke-like episodes) se traduit par une encéphalopathie avec acidose lactique et des pseudo-accidents vasculaires cérébraux, est associé à une mutation commune hétéroplasmique en position 3243A>G au niveau de l'ARNt$^{leu(UUR)}$ de l'ADNmt.

Ce syndrome neurovasculaire affecte principalement les neurones et les vaisseaux cérébraux. Les traitements des pathologies mitochondriales font cruellement défaut. L'utilisation de modèles cellulaires cybrides neuronaux reproduisant les pathologies neurologiques associées à des mutations de l'ADNmt pourrait permettre de mieux comprendre la physiopathologie de ces maladies et définir de nouvelles cibles thérapeutiques. Nous avons construit des lignées cybrides de type neuronal à partir de la lignée neuroblastome SH-SY5Y possédant le même patrimoine nucléaire mais présentant des taux d'hétéroplasmie différents (70%, 90% et 100% mutants) pour la mutation 3243A>G. Ces lignées cybrides ont la particularité de pouvoir être différenciées en cellules de type neuronal. L'impact de l'hétéroplasmie variable de l'ADNmt sur la physiopathologie neuronale a pu ainsi être analysé au niveau cellulaire et mitochondrial.

En fonction du taux d'hétéroplasmie, nous avons étudié l'impact de la mutation sur le métabolisme énergétique de la chaîne respiratoire et sur la dynamique mitochondriale. La mutation 3243A>G induit un swith métabolique fonction du taux d'hétéroplasmie évoluant d'un métabolisme oxidatif prédominant (70% mutant) vers un métabolisme glycolytique (100% mutant) avec des altérations du réseau mitochondrial et un déficit sévère touchant les activités et assemblage des complexes I et IV de la chaîne respiratoire et un déficit de production d'oxyde nitrique (NO).

Nous avons pu montré que l'addition de L-arginine donneur de NO permet de restaurer significativement l'activité du complexe I suggérant que cette thérapie pourrait constituer une stratégie thérapeutique dans le MELAS. Il a été en effet suggéré que les épisodes de pseudo-accidents vasculaires cérébraux pourraient être la conséquence d'un perte de la vasodilatation des vaisseaux cérébraux par déficit en NO. La caractérisation de ce modèle de type neuronal permet ainsi d'évaluer le potentiel et l'efficacité thérapeutique de molécules candidates agissant sur les fonctions mitochondriales.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P652 - CHARACTERIZATION OF VISUAL IMPAIRMENT IN WFS1 (WOLFRAM SYNDROME 1)-DEFICIENT MICE. CARACTERISATION DE L'ALTERATION VISUELLE DE LA SOURIS WFS1-/- (WOLFRAM SYNDROME 1).

D Bonnet Wersinger (1), C Hamel (2), G Lenaers (1), C Delettre (1)
1. INSERM U1051, Institut des Neurosciences de Montpellier, Montpellier, France
2. Ophtalmologie, Gui de Chauliac, Montpellier, France

Wolfram syndrome 1 is a rare autosomal recessive syndrome (1/160,000), diagnosed in children by associated diabetes mellitus and visual loss. Optic atrophy is detected during early childhood and leads to blindness around 20 years old. Our ultimate project is thus to test ocular gene therapy efficiency in this fast degeneration, by WFS1 gene transfer in the Wfs1 knock-out mouse (Ishihara et al, 2004). Here we describe preliminary results from the characterization of Wfs1-/- mouse visual function. Scotopic electroretinograms showed reduced amplitudes of rod photoreceptor and inner retina functions (A- and B- waves respectively), but these effects were not amplified in older animals. In contrast, visual evoked potentials were progressively impaired : total N+P amplitudes were decreased in Wfs1-/- by 10, 40 and 50%, respectively at 3, 6 and 9 months, as compared with controls. Additionally, Wfs1-/- mouse visual deterioration is currently under analysis through structural exams (histology and eye fundi) and other functional assays (visual acuity and contrast sensitivity).

Keywords : vision, degeneration, mitochondria, electrophysiology, rare disease, Wolfram

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P653 - EVALUATION DE LA THERAPIE GENIQUE IN VIVO POUR LE TRAITEMENT DE LA CARDIOMYOPATHIE ASSOCIE A L'ATAXIE DE FRIEDREICH A L'AIDE D'UN VECTEUR VIRAL ADENO-ASSOCIE (AAV10)

B BELBELLAA (1), M PERDOMINI (1), L MONASSIER (2), P AUBOURG (3), H PUCCIO (1)

1. Département de médecine translationnelle et de neurogénétique, Inserm U596 et CNRS UMR7104, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France
2. EA 4438, Laboratoire de Neurobiologie et Pharmacologie Cardiovasculaire, Faculté de Médecine, STRASBOURG, France
3. Inserm U745, Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques, Université Paris-Descartes, PARIS, France

L'ataxie de Friedreich (AF) est une maladie neurodégénérative autosomique récessive. Elle se manifeste principalement par une altération progressive de la coordination motrice et de l'équilibre, et par une cardiomyopathie hypertrophique. L'AF est due à une perte de fonction d'une protéine mitochondriale, la frataxine (FXN). En effet, la mutation majoritaire est une expansion trinucléotidique (GAA)n dans le premier intron du gène de la frataxine (FXN) à l'origine d'une diminution sévère de la transcription. La fonction de la FXN est étroitement liée à la biosynthèse des noyaux fer-soufre (Fe-S), bien que son rôle exact reste à être élucidé. Les conséquences physiopathologiques d'un déficit en FXN sont un déficit fonctionnel des protéines Fe-S, une accumulation de fer intramitochondriale et une hypersensibilité au stress oxydant. À ce jour, il n'existe aucun traitement efficace pour stopper ou ralentir l'évolution de l'AF.

Notre objectif est de développer une approche de thérapie génique. Précédemment, nous avons créé des modèles murins par délétion conditionnelle reproduisant les caractéristiques cliniques, moléculaires et biochimiques de l'AF. Le modèle murin cardiaque (MCK) présente une délétion en FXN spécifiquement dans les muscles cardiaque et squelettique, et développe une cardiomyopathie hypertrophique avec un profil biochimique caractéristique de l'AF. Les vecteurs viraux dérivés des virus adéno-associés (AAV) permettent une expression efficace et stable dans le cœur. Nous avons utilisé un vecteur AAV de sérotype 10 codant pour la FXN humaine sous le contrôle du promoteur ubiquitaire CAG (AAV10.CAG-hFXN) pour restaurer un taux de FXN thérapeutique dans le modèle cardiaque. L'efficacité thérapeutique de ce vecteur a été évaluée par échocardiographie suite à l'administration intraveineuse du vecteur (4,86.1011 vg/souris) à un stage pré-symptomatique dans des mutantes MCK (n=9). L'expression de la FXN transgénique dans le cœur des souris traitées a été validée par RTQPCR et immunofluorescence. Toutes les mutantes MCK non traitées (n=10) ont développé une dilatation progressive du ventricule gauche associée à une hypertrophie à partir de 6 semaines qui s'est conclu par leur mort à 65±10 jours. A l'inverse, aucune souris mutantes MCK traitées avec le vecteur AAV10-hFXN ne montrent de signes d'atteinte cardiaque à ce jour (24 semaines d'âge) et ne se différencient des souris WT (caractéristiques cardiaques, poids, survie). La caractérisation des effets thérapeutiques au niveau histologique, biochimique et moléculaire est en cours. En particulier, l'expression de marqueurs spécifiques d'insuffisance cardiaque et de l'AF ainsi que l'activité d'enzymes Fe-S sera mesurée. Nos résultats démontrent qu'une administration pré-symptomatique d'un vecteur AAV10 codant pour la FXN humaine prévient le développement d'une cardiomyopathie dans un modèle murin de l'AF. L'effet thérapeutique en post-symptomatique doit maintenant être tester.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P654 - HAPLOINSUFFISANCE DU GENE TSHZ3 ET PHENOTYPES NEUROCOGNITIFS ET COMPORTEMENTAUX.

J Andrieux (1), X Caubit (2), L fasano (2), A Liedén (3), M Shinawi (4)

1. Laboratoire de Génétique Médicale, Hopital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, Lille, France
2. IBDML UMR6216 CNRS, Aix-Marseille Univ - CNRS, Marseille, France
3. Clinical Genetics Unit, Karolinska University Hospital, Stockholm, Suède
4. Department of Pediatrics, Division of Genetics and Genomic Medicine, Washington University School of Medicine, St. Louis, USA

La généralisation de l'utilisation de la CGH-array à des fins diagnostiques a permis la détection de remaniements chromosomiques de petite taille chez les patients atteints de retard mental, d'anomalies du développement et de troubles neuro-psychiatriques. Ceci a conduit à l'identification de plusieurs gènes responsables de ces affections.

Nous décrivons ici 5 cas de délétions 19q hétérozygotes interstitielles associées à un retard mental syndromique ou non, collectés dans une étude collaborative. La zone minimale critique concerne le gène TSHZ3.

Des travaux antérieurs chez la souris ont montré que le gène Tshz3, qui code pour un facteur de transcription à doigt à zinc, est requis pour la différenciation et la survie de sous populations neuronales. La protéine TSHZ3 est détectée dans les neurones du neo-cortex pendant la corticogenèse fœtale. Nous avons analysé le profil d'expression de marqueurs spécifiques des couches du neo-cortex d'embryons mutants pour Tshz3. Ces expériences révèlent des altérations de l'expression des marqueurs, en particulier ceux des couches profondes. De plus, la perte de fonction de Tshz3 entraîne la sur- ou sous-expression de gènes liés à l'autisme. En conclusion, ces résultats suggèrent que TSHZ3 participe aux mécanismes moléculaires et cellulaires qui contrôlent le développement cortical. Nos résultats préliminaires chez l'homme suggèrent que l'haploinsuffisance de TSHZ3 peut être associée à des phénotypes neuro cognitifs et comportementaux.

POSTER

8. Recherche translationnelle : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux, approches thérapeutiques

P655 - LA REGION D21S17-ETS2 DE HSA21 CONTRIBUE AUX PHENOTYPES COGNITIFS MOTEURS ET CEREBRAUX CHEZ DES SOURIS MODELE DE TRISOMY 21 (DOWN SYNDROME)

PL Roubertoux (1), N Baril (2), V Vidal (3), C Bartoli (4), B Jesson (3), C Scajola (5), DJ Smith (6), Ed Rubin (7), M Carlier (8)

1. INSERM U 910 Génétique Médicale, Génomique Fonctionnelle, Aix-Marseille Université, Marseille, France
2. Université Pôle 3C, plateforme imagerie cérébrale du petit animal, Aix-Marseille Université, Marseille, France
3. IMAXIO, Bipole de Clermont-Limagne, Clermont-Ferrand, France
4. INSERM U 910 Génétique Médicale, Génomique Fonctionnelle, Aix-Marseille Université, Marseille, France
5. INSERM U 910 Génétique Médicale, Génomique Fonctionnelle, Aix Marseille Université, Marseille, France
6. Department of Molecular and Medical Pharmacology,David Geffen School of Medicine, University of California, Los Angeles, USA
7. Joint Genome Institute, Los Alamos National Laboratory, Los Alamos New Mexico, USA
8. CNRS UMR 6146 Psychologie cognitive, Aix Marseille Université, Marseille, France

La trisomie 21 est la première cause génétique de déficience intellectuelle et touche de 1/800 à 1/ 1000 naissances (Morris & Alberman, 2009). On estime à près de 300 le nombre de gènes portés par HSA21 (Watanabe et al. 2004). Seul un petit nombre serait impliqué dans les troubles cognitifs et neurologiques définissant le syndrome. Delabar et al. (1993), Korenberg et al. (1994, 2010) identifient une région de HSA 21 (D21S17-ETS2) comme critique parce qu'elle est associée à la plupart des signes de Jackson décrivant le syndrome. L'existence de synténies entre HSA21 et les chromosomes murins MMU16, MMU17 et MMU20 permet de mettre à l'épreuve cette hypothèse, grâce à un ensemble de modèles souris. Ni une triple copie de la région synténique de MMU10 ni celle de MMU17 ne semblent associées à des déficits cognitifs. En revanche, une triple copie de la région synténique de MMU16 est associée à des traits cognitifs et cérébraux présents dans le syndrome (Roubertoux, Carlier, 2011). Or, la région murine synténique à D21S17-ETS2 se situe sur MMU16. Huit lignées transgéniques pour des fragments contigus couvrant D21S17-ETS2 (Smith et al., 1999) ont été utilisées ainsi qu'une lignée trisomique pour la région synténique MMU16. Les gènes des lignées ont été séquencés pour s'assurer de l'intégrité des transgènes. Les transcrits de gènes extérieurs à D21S17-ETS2 ont été mesurés, dans l'hippocampe, pour chaque lignée. Les comparaisons entre lignées utilisent 11 traits comportementaux (cognition, motricité, tonicité) et 12 traits cérébraux mimant ceux qu'on observe dans la trisomie 21. Les données sont analysés en terme de taille d'effet (Cohen's d). Les principaux résultats sont les suivants. 1) Les fragments de HSA21 modulent la transcription de façon différentielle dans l'hippocampe. Le nombre de gènes sur ou sous transcrits n'est pas fonction du nombre de gènes portés par le fragment tripliqué. La triplication du fragment 152F7 (4 gènes) module autant de gènes que la triplication des gènes inclus dans Ts65Dn. 2) Si le fragment 152F7 contenant Dyrk1a affecte l'acquisition dans une tâche spatiale, il les affecte moins que Ts65Dn et n'affecte pas d'autres types d'acquisition. Les autres fragments couvrant D21S17-ETS2 modulent d'autres types d'apprentissages. 3) Les structures cérébrales (hippocampe, ventricules, cortex, corps calleux, striatum) sont modulées également par les différentes trisomies segmentaires qui induisent des effets de même taille. Le nombre des épines dendritiques du gyrus denté est abaissé dans les quatre lignées trisomiques fragmentaires mais l'effet est de 25% de celui induit par la triplication Ts65Dn. Les résultats, pris ensemble suggèrent 1) une contribution modérée et non exclusive de la région D21S17-ETS2 ; 2) une contribution épistatique des gènes de cette région au phénotype trisomique est suggérée.

Remerciements

Fondation Lejeune, AFI-Aveyron (Rodez) pour son aide à l'analyse des données d'apprentissage