

C. Lechat, C. Le Caignec, O. Pichon, D. Poulain, A. Briand, B. Isidor

Service de Génétique Médicale (Cytogénétique), Centre Hospitalo-Universitaire, Nantes, France

Introduction

Une demande d'analyse chromosomique a été adressée au laboratoire de Cytogénétique du CHU de Nantes pour une enfant présentant un retard des acquisitions et de croissance, une dysmorphie faciale, ainsi qu'une épilepsie. Des analyses par Hybridation Génomique Comparative par puce à ADN (ou CGH array) et par Hybridation *In Situ* en Fluorescence (ou FISH) ont été réalisées sur l'enfant et ses parents, afin de déterminer, si l'anomalie chromosomique détectée, est héritée d'un parent ou de novo.

Matériels et Méthodes - Résultats

CGH array

Hybridation Génomique Comparative par puce à ADN : Analyse exploratoire et globale du génome mettant en évidence des déséquilibres chromosomiques (délétion, duplication) non détectables avec un caryotype classique chez un patient.

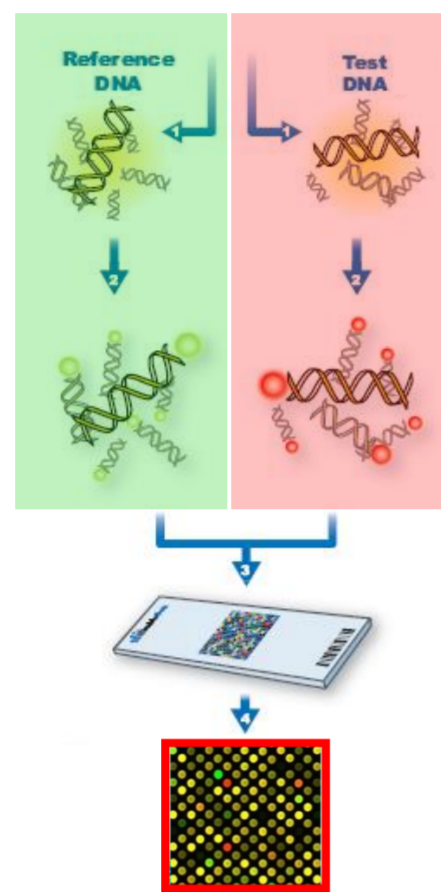
Matériels et Méthode

Marquage fluorescent de l'ADN:
- patient en dCTP-cy5
- témoin en dCTP-cy3

Co-hybridation

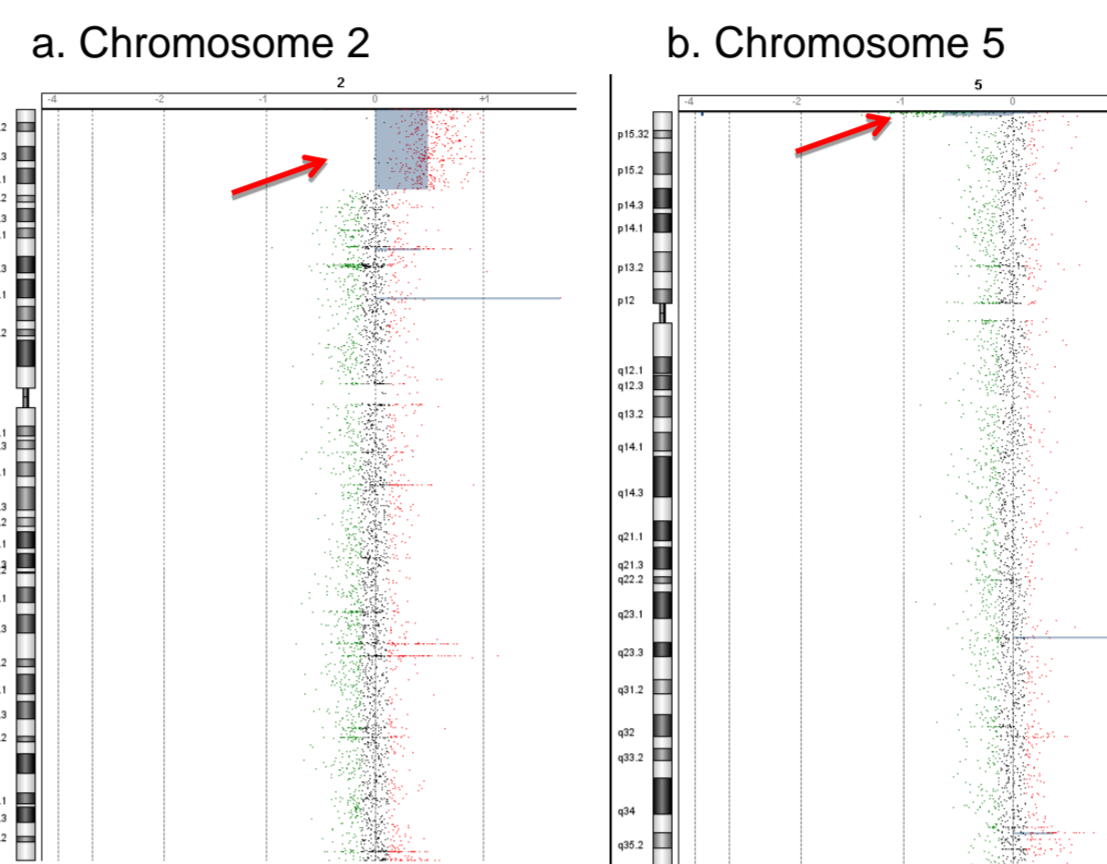
Scan et analyse

Principe de la CGH array



Résultats

Analyse du génome de l'enfant



Résultats de la CGH array :

Après exclusion des polymorphismes, observation d'une:
- **duplication subtélomérique** (ou terminale) du bras court du **chromosome 2** (2pter) = 26,2 Mb
- **délétion subtélomérique** du bras court du **chromosome 5** (ou 5pter) = 1,2 Mb

→ Pour confirmer le résultat de la CGH array et analyser l'ADN des parents dans ces régions chromosomiques afin de déterminer l'origine de la mutation, des FISH ont été réalisées.

FISH

Hybridation *In Situ* en Fluorescence : Analyse spécifique de région chromosomique permettant de déterminer si l'anomalie chromosomique est héritée d'un parent ou de novo
Etude par FISH des chromosomes 2 et 5 séparément

Matériels et Méthode

Choix de sonde ADN

Marquage par Nick translation
Sonde spécifique
Sonde témoin

Prélèvement

Ensemencement

Synchronisation

Étalement

Co-Dénaturation

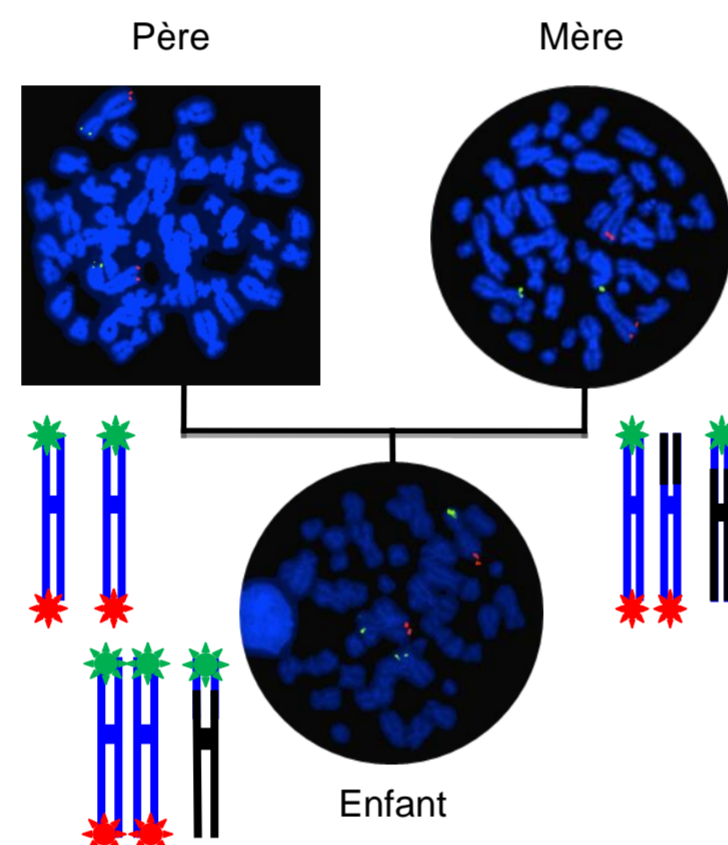
Hybridation

Rinçage post-hybridation

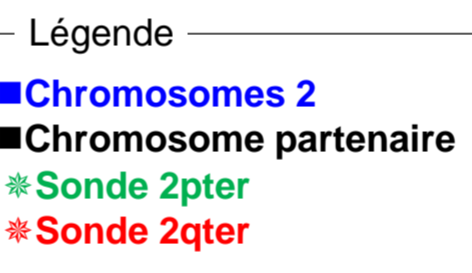
Lecture des lames

Résultats

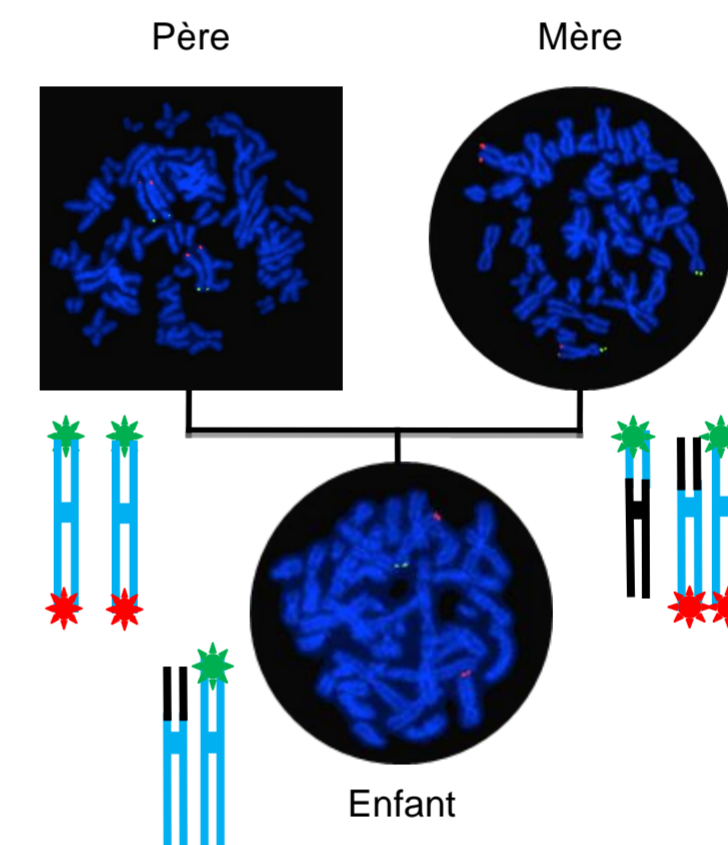
Chromosome 2



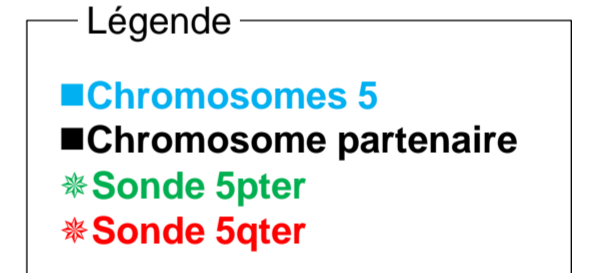
- Père : 2 hybridations normales
- Mère : 1 hybridation complète, 1 hybridation sur un chromosome partenaire
- Enfant : 3 hybridations : 2 sur les chromosomes 2 et 1 sur un chromosome partenaire



Chromosome 5



- Père : 2 hybridations normales
- Mère : 1 hybridation complète, 1 hybridation sur un chromosome partenaire
- Enfant : 1 hybridation sur un chromosome 5 et délétion subtélomérique du deuxième



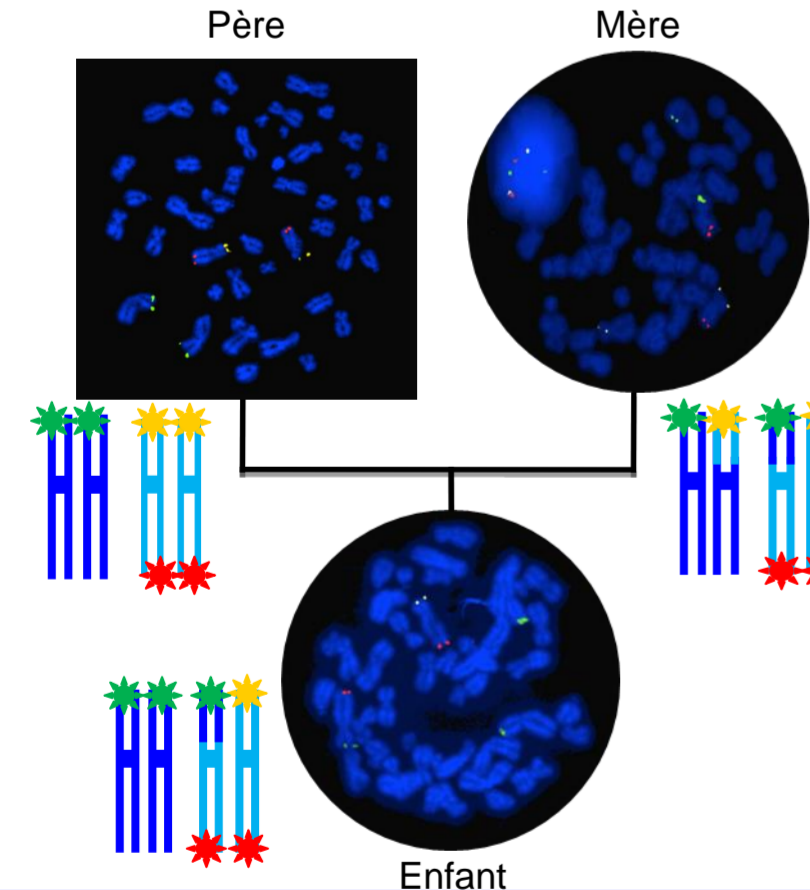
→ Le père a un caryotype normal.

→ La mère semblerait avoir une translocation réciproque équilibrée

→ L'enfant semblerait avoir un **dérivé de translocation déséquilibré** car, pour la sonde 2pter, une duplication sur un autre chromosome que le 2 est observée. Il semblerait juste de vérifier s'il s'agit du chromosome 5 à l'aide d'une FISH avec une sonde supplémentaire sur la même plage d'hybridation.

FISH avec 3 sondes

Confirmation des résultats



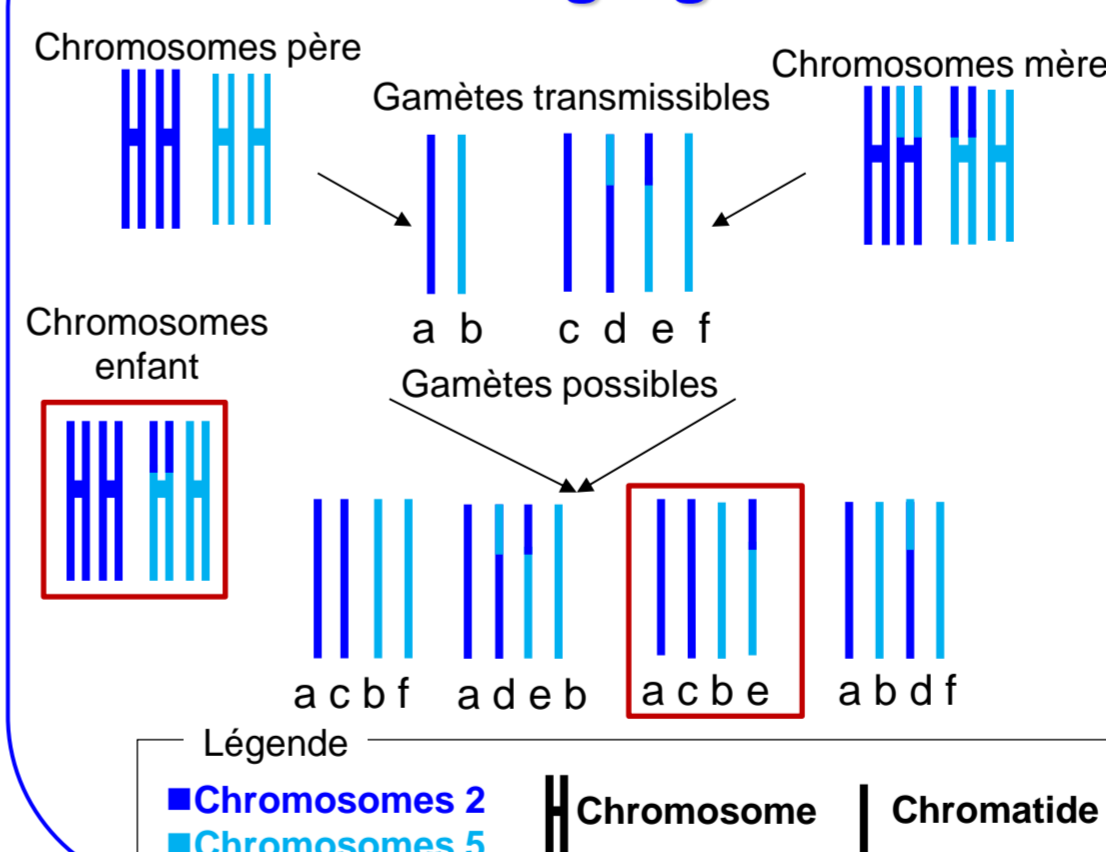
- Père : 3 hybridations normales
- Mère : translocation subtélomérique réciproque équilibrée entre le 2 et le 5
- Enfant : duplication subtélomérique du chromosome 2 sur le chromosome 5

→ Le père a un caryotype normal.
→ La mère possède une translocation réciproque équilibrée, entre les chromosomes 2 et 5
→ L'enfant présente un **dérivé de translocation déséquilibré**



Génotypes transmissibles

Schéma de ségrégation



4 génotypes différents transmissibles:

- 1 génotype normal
- 1 génotype transloqué et équilibré
- 1 génotype avec un dérivé de translocation déséquilibré, identique à l'enfant étudiée (dup 2pter, del 5pter)
- 1 génotype avec un dérivé de translocation déséquilibré, inverse à l'enfant étudiée (del 2pter, dup 5pter)

→ Ce couple a deux risques sur quatre de transmettre un génotype déséquilibré, un risque sur quatre de transmettre la translocation équilibrée et une chance sur quatre de transmettre un phénotype normal

Discussion et Conclusion

L'enfant présente un retard des acquisitions (à 12 mois, elle ne tient pas assise), un retard de croissance, une dysmorphie faciale ainsi qu'une épilepsie, la grossesse était pourtant normale. Pour déterminer l'origine des malformations, le Dr Isidor a adressé le sang de la patiente afin de faire faire une étude chromosomique. Au vu des analyses réalisées, le père présente un caryotype normal, la mère une translocation réciproque équilibrée et l'enfant un **dérivé de translocation déséquilibré** entre les zone télomériques du bras court des chromosomes 2 et 5.

Ces résultats montrent que l'enfant a **hérité** du dérivé de translocation de la mère, celle-ci présente une recombinaison illégitime de deux chromosomes non homologues, entre la partie 2pter et 5pter. Cette anomalie chromosomique prédispose ce couple à avoir un enfant avec un génotype déséquilibré. Il faut donc mettre en garde ce couple du risque possible de récurrence, avec un risque sur deux de transmettre un remaniement chromosomique déséquilibré.

Il existe deux génotypes déséquilibrés possibles, celui présenté par l'enfant étudié ainsi que sa réciproque, pour laquelle on ne connaît pas les conséquences phénotypiques.

Il faut noter également la probabilité qu'un enfant sur quatre ait le même génotype que sa mère (cet enfant se trouvera à son tour face aux mêmes risques pour la descendance future).

En cas de volonté d'un nouvel enfant, il faut mettre en place un conseil génétique pour augmenter les chances d'avoir un enfant avec un génotype non déséquilibré.

Lors d'une prochaine grossesse, un diagnostic prénatal à la 13ème semaine d'aménorrhée doit être proposé, afin de vérifier s'il y a eu ou non transmission d'anomalie génétique et par conséquent savoir le phénotype de l'enfant à naître. En plus, un diagnostic préimplantatoire (ou DPI) est proposé aux familles susceptibles de transmettre une maladie grave et incurable. Celui-ci permet une recherche génétique uniquement sur une anomalie chromosomique déjà mise en évidence et transmissible.

Afin d'améliorer l'étude de cette anomalie et son mode de transmission, un début d'enquête familiale a été réalisé. Une étude par FISH, réalisée uniquement sur la sœur de la mère, montre un résultat normal. Il faudrait continuer l'enquête familiale en étudiant l'ADN des grands-parents. Et faire une analyse phénotypique de la famille élargie afin de noter s'il y a eu des cas similaires et/ou des formes plus légères du phénotype observé.