

UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTÉ DE MÉDECINE

ANNEE 2011

THESE N°

DIAGNOSTIC ET DESCRIPTION DU PHENOTYPE
NEUROPSYCHOLOGIQUE DES PATIENTS
PRESENTANT UN SYNDROME
MICRODELETIONNEL 17q12

Thèse

pour le diplôme d'état de docteur en médecine
présentée et soutenue publiquement le 30 septembre 2011
par

Fanny LAFFARGUE

née le 19 novembre 1982, à Saintes (17)

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

Mme le Professeur Anne LIENHARDT-ROUSSIEPrésident
M le Professeur Vincent GUIGONIS.....Directeur
M le Professeur Didier LACOMBE.....Juge
Mme le Professeur Catherine YARDINJuge
Mme le Docteur Cécile LAROCHE-RAYNAUDMembre invité
Mme le Docteur Sylvie BOURTHOUMIEUMembre invité

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTÉ DE MÉDECINE

ANNEE 2011

THESE N°

DIAGNOSTIC ET DESCRIPTION DU PHENOTYPE
NEUROPSYCHOLOGIQUE DES PATIENTS
PRESENTANT UN SYNDROME
MICRODELETIONNEL 17q12

Thèse

pour le diplôme d'état de docteur en médecine
présentée et soutenue publiquement le 30 septembre 2011
par

Fanny LAFFARGUE

née le 19 novembre 1982, à Saintes (17)

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

Mme le Professeur Anne LIENHARDT-ROUSSIEPrésident
M le Professeur Vincent GUIGONIS.....Directeur
M le Professeur Didier LACOMBE.....Juge
Mme le Professeur Catherine YARDINJuge
Mme le Docteur Cécile LAROCHE-RAYNAUDMembre invité
Mme le Docteur Sylvie BOURTHOUMIEUMembre invité

Liste du corps enseignant de la faculté de médecine

DOYEN DE LA FACULTE:

Monsieur le Professeur VALLEIX Denis

ASSESEURS:

Monsieur le Professeur LASKAR Marc
Monsieur le Professeur MOREAU Jean-Jacques
Monsieur le Professeur PREUX Pierre-Marie

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS:

* C.S = Chef de Service

ACHARD Jean-Michel	PHYSIOLOGIE
ADENIS Jean-Paul (C.S)	OPHTALMOLOGIE
ALAIN Sophie	BACTERIOLOGIE, VIROLOGIE
ALDIGIER Jean-Claude (C.S)	NEPHROLOGIE
ARCHAMBEAUD-MOUVEROUX Françoise (C.S)	MEDECINE INTERNE
ARNAUD Jean-Paul (C.S)	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
AUBARD Yves (C.S)	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
BEAULIEU Pierre	ANESTHESIOLOGIE et REANIMATION CHIRURGICALE
BEDANE Christophe (C.S)	DERMATOLOGIE-VENEREOLOGIE
BERTIN Philippe (C.S)	THERAPEUTIQUE
BESSEDE Jean-Pierre (C.S)	OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE
BONNAUD François	PNEUMOLOGIE
BONNETBLANC Jean-Marie	DERMATOLOGIE-VENEREOLOGIE
BORDESSOULE Dominique (C.S)	HEMATOLOGIE
CHARISSOUX Jean-Louis	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
CLAVERE Pierre (C.S)	RADIOTHERAPIE
CLEMENT Jean-Pierre (C.S)	PSYCHIATRIE ADULTES
COGNE Michel (C.S)	IMMUNOLOGIE
COLOMBEAU Pierre	UROLOGIE
CORNU Elisabeth	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIO-VASCULAIRE
COURATIER Philippe	NEUROLOGIE
DANTOINE Thierry (C.S)	GERIATRIE ET BIOLOGIE DU VIEILLISSEMENT
DARDE Marie-Laure (C.S)	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE
DAVIET Jean-Christophe	MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION
DE LUMLEY WOODYEAR Lionel (Sur 31/08/2011)	PEDIATRIE
DENIS François (Sur 31/08/2011)	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
DESPOIT Jean-Claude	NUTRITION
DRUET-CABANAC Michel (C.S)	MEDECINE ET SANTE DU TRAVAIL
DUMAS Jean-Philippe (C.S)	UROLOGIE
DUMONT Daniel (Sur 31/08/2012)	MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL
ESSIG Marie	NEPHROLOGIE
FEISS Pierre (Sur 31.08.2013)	ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE
FEUILLARD Jean (C.S)	HEMATOLOGIE
FOURCADE Laurent	CHIRURGIE INFANTILE
GAINANT Alain (C.S)	CHIRURGIE DIGESTIVE 5
GAROUX Roger (C.S)	PEDOPSYCHIATRIE
GASTINNE Hervé (C.S) (Retraite au 04.10.10)	REANIMATION MEDICALE
GUIGONIS Vincent	PEDIATRIE
JACCARD Arnaud	HEMATOLOGIE
JAUBERTEAU-MARCHAN Marie-Odile	IMMUNOLOGIE
LABROUSSE François (C.S)	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUE
LACROIX Philippe	MEDECINE VASCULAIRE
LASKAR Marc (C.S)	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIO-VASCULAIRE
LIENHARDT-ROUSSIE Anne (C.S)	PEDIATRIE
MABIT Christian	ANATOMIE
MAGY Laurent	NEUROLOGIE
MARQUET Pierre	PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE
MATHONNET Muriel	CHIRURGIE DIGESTIVE
MAUBON Antoine	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE
MELLONI Boris (C.S)	PNEUMOLOGIE
MERLE Louis	PHARMACOLOGIE CLINIQUE
MONTEIL Jacques (C.S)	BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE
MOREAU Jean-Jacques (C.S)	NEUROCHIRURGIE
MOULIES Dominique (C.S) (Sur. 31.08.2013)	CHIRURGIE INFANTILE

MOUNAYER Charbel
NATHAN-DENIZOT Nathalie (C.S)
PARAF François
PLOY Marie-Cécile (C.S)
PREUX Pierre-Marie
ROBERT Pierre-Yves
SALLE Jean-Yves (C.S)
SAUTEREAU Denis (C.S)
SAUVAGE Jean-Pierre (Sur 31/08/2011)
STURTZ Franck (C.S)
TEISSIER-CLEMENT Marie-Pierre
TREVES Richard
TUBIANA-MATHIEU Nicole (C.S)
VALLAT Jean-Michel (C.S)
VALLEIX Denis (C.S)
VANDROUX Jean-Claude (Sur 31/08/2011)
VERGNENEGRE Alain (C.S)
VIDAL Elisabeth (C.S)
VIGNON Philippe
VIROT Patrice (C.S)
WEINBRECK Pierre (C.S)
YARDIN Catherine (C.S)

RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE
ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE
ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUE
BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE ET PREVENTION
OPHTALMOLOGIE
MEDECINE PHYSIQUE ET READAPTATION
GASTRO-ENTEROLOGIE, HEPATOLOGIE
OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE
BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
ENDOCRINOLOGIE, DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES
RHUMATOLOGIE
CANCEROLOGIE
NEUROLOGIE
ANATOMIE ET CHIRURGIE GENERALE
BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE
EPIDEMIOLOGIE-ECONOMIE DE LA SANTE et PREVENTION
MEDECINE INTERNE
REANIMATION MEDICALE
CARDIOLOGIE
MALADIES INFECTIEUSES
CYTOLOGIE ET HISTOLOGIE

MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AJZENBERG Daniel
ANTONINI Marie-Thérèse (C.S)
BOURTHOMIEU Sylvie
BOUTEILLE Bernard
CHABLE Hélène
DURAND-FONTANIER Sylvaine
ESCLAIRE Françoise
FUNALOT Benoît
HANTZ Sébastien
LAROCHE Marie-Laure
LE GUYADER Alexandre
MARIN Benoît
MOUNIER Marcelle
PICARD Nicolas
QUELVEN-BERTIN Isabelle
TERRO Faraj
VERGNE-SALLE Pascale
VINCENT François

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE
PHYSIOLOGIE
CYTOLOGIE ET HISTOLOGIE
PARASITOLOGIE - MYCOLOGIE
BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
ANATOMIE ET CHIRURGIE DIGESTIVE
BIOLOGIE CELLULAIRE
BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
PHARMACOLOGIE CLINIQUE
CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIO-VASCULAIRE
EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE de la SANTE et PREVENTION
BACTERIOLOGIE ET VIROLOGIE ET HYGIENE HOSPITALIERE
PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE
BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE
BIOLOGIE CELLULAIRE
THERAPEUTIQUE
PHYSIOLOGIE

PRATICIEN HOSPITALIER UNIVERSITAIRE

CAIRE François

NEUROCHIRURGIE

P.R.A.G.

GAUTIER Sylvie

ANGLAIS

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS

BUCHON Daniel
BUISSON Jean-Gabriel

MÉDECINE GÉNÉRALE
MEDECINE GENERALE

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS

DUMOITIER Nathalie
PREVOST Martine

MEDECINE GENERALE
MEDECINE GENERALE

REMERCIEMENTS : A mon jury de thèse

- **Madame le Professeur Anne LIENHARDT-ROUSSIE** - *Professeur des Universités de Pédiatrie. Praticien Hospitalier. Chef de service. Hôpital de la Mère et de l'Enfant, Limoges.*

Pour m'avoir soutenue et encouragée tout au long de l'internat. Pour avoir tout fait pour que je puisse obtenir un inter-CHU et deux hors filières en génétique. Pour votre enseignement, vos conseils et votre disponibilité.

- **Monsieur le Professeur Vincent GUIGONIS** - *Professeur des Universités de Pédiatrie. Praticien Hospitalier. Hôpital de la Mère et de l'Enfant, Limoges.*

Pour ce sujet de thèse qui m'a vraiment passionnée. Pour tout ce que tu nous enseignes au quotidien. Pour ton esprit critique, ta rigueur, ton perfectionnisme et tes grandes qualités de pédagogue. Pour m'avoir appris que l'intérêt de connaître c'est de transmettre.

- **Monsieur le Professeur Didier LACOMBE** - *Professeur des Universités de Génétique Médicale. Praticien Hospitalier. Chef de service. Hôpital Pellegrin, Bordeaux.*

Pour votre accueil chaleureux au sein de votre équipe. Pour votre expérience et vos connaissances qui m'ont vraiment impressionnée. Pour me faire l'honneur d'être dans mon jury de thèse.

- **Madame le Professeur Catherine YARDIN** - *Professeur des Universités de Cytogénétique. Praticien Hospitalier. Chef de service. Hôpital de la Mère et de l'Enfant, Limoges.*

Pour m'avoir permis de venir deux semestres dans ton service. Pour tes conseils attentionnés tout au long de ce travail. Pour ta gentillesse et ta disponibilité.

- **Madame le Docteur Cécile LAROCHE-RAYNAUD** - *Praticien hospitalier en Pédiatrie. Hôpital de la Mère et de l'Enfant, Limoges.*

Pour m'avoir tenu la main lors de mes premiers pas en pédiatrie. Pour ton enthousiasme et ton dynamisme. Pour tout ce que tu m'as appris.

- **Madame le Docteur Sylvie BOURTHOUMIEU** - *Praticien hospitalier en Cytogénétique. Maître de Conférences des Universités en Cytologie et Histologie. Hôpital de la Mère et de l'Enfant.*

Pour avoir fait ta connaissance sous une tempête de neige. Pour tous les moments passés ensemble à mettre au point la technique. Pour tes conseils précieux et avisés.

A tous ceux qui ont participé à ce travail

- **A tous les néphrologues pédiatres.** Pour m'avoir permis d'inclure vos patients.
 - Dr Brigitte LLANAS (Bordeaux)
 - Dr Annie LAHOUCHE (Lille)
 - Dr Véronique BAUDOUIN (Paris Robert Debré)
 - Pr Georges DESCHENES (Paris Robert Debré)
 - Dr Anne MAISIN (Paris Robert Debré)
 - Dr Jean Bernard PALCOUX (Clermont-Ferrand)
 - Pr Denis MORIN (Montpellier)
 - Pr Loïc DE PARSCAU (Brest)

- **Au Docteur Marie-Ange DELRUE (Génétique Médicale Bordeaux).** Pour ta participation à l'interprétation des signes dysmorphiques. Pour m'avoir appris tant de choses. Pour ta disponibilité et ta bonne humeur.

- **Aux psychologues : Emmanuelle TAUPIAC (Bordeaux) et Emilie DIZIER (Limoges).** Pour tout le temps que vous avez consacré à ce travail. Pour votre implication et votre gentillesse.

- **A Nicolas RODIER (CIC, Limoges).** Pour avoir géré tout le côté logistique de l'étude. Pour m'avoir confectionné une belle base de données Access.

- **A Claire BAHANS (Attachée de recherche clinique, Limoges).** Pour tes conseils lors de la réalisation du questionnaire et ton aide précieuse pour l'analyse des résultats.

- **A l'équipe de cytogénétique.** Pour votre implication dans cette étude.

- **A Cécile E.** Pour avoir réalisé les analyses cytogénétiques (FISH) lorsque j'étais à Bordeaux.

- **A Alex M.** Pour tous tes petits messages de soutien et ton aide en informatique.

- **A Alex L.** Pour avoir participé à la distribution des kits.

- **A Marie et Charlotte.** Pour avoir voulu me trouver à Brive un trentième patient à inclure...

- **A Sandrine et Guillaume.** Pour avoir réparé mon PC « planté » un mois avant la thèse...

A ma famille et mes amis

- **A mes parents.** Pour m'avoir toujours écoutée, soutenue et encouragée. Pour votre amour et pour toutes les valeurs que vous m'avez transmises.
- **A Danielle,** ma tante, ma deuxième mère. Pour ton accueil lors de mon arrivée à Limoges. Pour ta présence, ta tendresse et tes bons petits plats.
- **A Pierre-François.** Pour ton amour, ton humour et ta présence depuis plus de 6 ans malgré l'éloignement.
- **A Géraldine,** ma grande sœur. Pour notre complicité et toutes nos chamailleries.
- **A mes grands-parents.** Tous partis trop vite. Je vous dédicace ce travail.
- **A toute ma famille.** Oncles, tantes, cousins, cousines... et à Florent.
- **A toute la famille de Pierre-François.** Françoise, Manie, Marie, Matthieu, Bertrand, Susanne et les enfants.

- **A Claire,** mon amie de toujours. A tous nos fous rires et nos souvenirs. Merci de me faire l'immense plaisir de venir de s'y loin pour ma soutenance.
- **A Julie et Flo,** mes fidèles copines de l'internat. A notre trio complice. A tous nos bons moments.
- **A toutes les internes de pédiatrie.** Alex M, Alex L, Marie, Marianne, Marion, Charlotte, Laure, Elsa, Anne-So, Amélie. Pour votre sens de l'amitié et de l'entraide.
- **A toutes les anciennes internes.** Laurène, Cécile, Marie-Lucile, Sophie.
- **A tous mes amis** de Limoges, Nantes, Bordeaux, Saintes, Barcelone...

A toutes les équipes de Pédiatrie et de Génétique de Limoges, Brive et Bordeaux

- **A tous les pédiatres**

Pour m'avoir accompagné tout le long de l'internat, pour m'avoir fait confiance et pour tous les petits « avis génétiques ».

- **A toutes les équipes de pédiatrie (PG, Néonatal, Réa, Urgences, Hémato.)**

Merci d'avoir rendu mon internat si sympathique.

- **A l'équipe de cytogénétique**

A Françoise (pour tous les paris que tu as perdus !), Sandrine, Isabelle, Delphine, Nathalie, Patricia, Christiane, Alain, Irène et Marie-Line

Pour votre accueil, votre bonne humeur et votre gentillesse.

- **A l'équipe de génétique de Bordeaux**

A Sophie, Cyril, Didier G, Cécile, Armelle, Guénola, Danielle, Emmanuelle, Sonia, Eva, Blandine, Laetitia, Marie-France.

Pour l'ambiance chaleureuse de votre service et pour tout ce que vous m'avez appris : de la génétique...à la recette des cannelés!

A Caroline, Eulalie, Dorothée...

Merci à tous.

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES.....	3
LISTE DES TABLEAUX	4
LISTE DES ABRÉVIATIONS	5
INTRODUCTION.....	6
CHAPITRE 1 - GENERALITES.....	7
PREMIERE PARTIE - GENE HNF1B	8
I- <i>HNF1B</i>: du gène à la protéine.....	9
A. Le gène	9
B. La protéine.....	10
II- <i>HNF1B</i> sur le plan clinique.....	12
A. Diabète de type MODY.....	12
B. Phénotype rénal du MODY 5	13
C. Atteintes extra-rénales	15
III- Anomalies génétiques de <i>HNF1B</i>.....	18
A. Mutations de <i>HNF1B</i>	18
B. Délétion du gène <i>HNF1B</i>	19
DEUXIEME PARTIE - REGION 17q12	23
I- Revue de la littérature : microdélétion et microduplications 17q12.....	24
II- 17q12 : Région à risque de réarrangement génomique.....	28
III- Les gènes de la région 17q12	31
CHAPITRE 2 - ETUDE.....	32
I- Objectifs de l'étude.....	33
II- Matériel et méthode	35
A. Population.....	35
B. Objectif 1 : l'analyse cytogénétique	36
C. Objectif 2 : l'analyse clinique.....	39
D. Analyse statistique.....	42

III- Résultats	43
A. Population.....	43
B. Résultats de l'analyse cytogénétique	43
C. Résultats de l'évaluation clinique.....	47
IV- Discussion	59
A. La délétion complète du gène <i>HNF1B</i> correspond systématiquement à une microdélétion 17q12.....	59
B. Des difficultés d'acquisition apparemment plus sévères chez les patients présentant une microdélétion 17q12.....	60
C. L'origine des troubles neuropsychologiques : les hypothèses.....	62
D. Une variabilité phénotypique plus importante dans le groupe microdélétion.....	64
E. La dysmorphie faciale associée aux microdélétions 17q12.....	65
F. Les limites de l'étude	66
V- Conclusion.....	66
 REFERENCES	 67
 AVIS DU COMITE D'ETHIQUE.....	 71
PROTOCOLE DE L'ETUDE.....	71

LISTE DES FIGURES

Figure 1 - Caryotype standard. Localisation du gène <i>HNF1B</i> en 17q12	9
Figure 2 - Structure du gène <i>HNF1B</i>	9
Figure 3 - Structure de la protéine HNF1B	10
Figure 4 - Homéodomaine ou Domaine POU	10
Figure 5 - Localisation des mutations par Edghill <i>et al.</i> en 2006 [41]	18
Figure 6 - Etude du gène <i>HNF1B</i> par technique de QMPSF Belanné <i>et al.</i> 2005 [31]	20
Figure 7 - Photographies des patients avec une microdélétion 17q12 par Moreno-De-Luca <i>et al.</i> 2010	26
Figure 8 - Mécanisme de NAHR en 17q12	29
Figure 9 - Délétion 17q12 par CGH array. Bernardini <i>et al.</i> , 2009 [47]	30
Figure 10 - Localisation des différents BACs dans la région 17q12	38
Figure 11 - Localisation du point de cassure proximal par technique FISH	44
Figure 12 - Localisation du point de cassure distal par technique FISH	44
Figure 13 - Taille de la microdélétion en 17q12 (18 patients)	46
Figure 14 - Signes dysmorphiques associés au syndrome microdélétionnel 17q12	54
Figure 15 - Photographies de face des patients porteurs d'une microdélétion 17q12	54
Figure 16 - Signes dysmorphiques associés aux mutations d' <i>HNF1B</i>	55
Figure 17 - Photographies de face des patients porteurs d'une mutation d' <i>HNF1B</i>	55
Figure 18 - Quotient intellectuel en fonction du type d'anomalie génétique	56
Figure 19 - VADG et microdélétion 17q12	58
Figure 20 - VADG et mutation d' <i>HNF1B</i>	58

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 - Les diabètes de type MODY les plus fréquents	13
Tableau 2 - Phénotype rénal (Bingham et Hattersley, 2004) [25].....	14
Tableau 3 - <i>HNF1B</i> et atteintes extra rénales pédiatriques	17
Tableau 4 - Phénotype clinique en fonction du type de mutation. Chen <i>et al.</i> 2010 [23].....	19
Tableau 5 - Phénotype clinique en fonction de la localisation de la mutation. [23]	19
Tableau 6 - Etude de la taille de la délétion 17q12 après identification d'une délétion du gène <i>HNF1B</i> . Revue de la littérature	21
Tableau 7 - Microdélétion (Del) / microduplication (Dup) en 17q12 : taille du remaniement génomique	28
Tableau 8 - Région 17q12: les gènes impliqués.....	31
Tableau 9 - Troubles neuropsychologiques associés à une microdélétion 17q12.....	33
Tableau 10 - Caractéristiques des BACs utilisés dans notre étude	37
Tableau 11 - Le développement psychomoteur normal du nourrisson et de l'enfant	40
Tableau 12 - Classification par niveau cognitif : DSM IV.....	41
Tableau 13 - Echelle CARS. Interprétation du score	42
Tableau 14 - Mensurations des patients à la naissance	47
Tableau 15 - Développement psychomoteur et l'acquisition de la propreté.....	48
Tableau 16 - Troubles sensoriels.....	49
Tableau 17 - Troubles du sommeil et de l'alimentation	49
Tableau 18 - Scolarité et prise en charge médico-éducative	53
Tableau 19 - QI et microdélétion 17q12	57
Tableau 20 - QI et mutation d' <i>HNF1B</i>	57

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AVS	Auxiliaire de Vie Scolaire
BAC	Bacterial Artificial Chromosome (ang)
CAMSP	Centre d'Action Médiaco Sociale Précoce
CATTP	Centre d'Accueil Thérapeutique à Temps Partiel
CGH array	Hybridation génomique comparative sur puce à ADN
CMPP	Centre Médico-Psycho-Pédagogique
FISH	Fluorescence <i>In Situ</i> Hybridation (ang)
HNF1A	Hepatocyte Nuclear Factor-1A (ang)
HNF1B	Hepatocyte Nuclear Factor-1B (ang)
HNF4A	Hepatocyte Nuclear Factor-4A(ang)
IPF1	Insulin Promoter Factor-1 (ang)
MODY	Maturity-Onset diabetes of the Young (ang)
NAHR	Mécanisme de Recombinaison Homologue Non Allélique
NEURO D1	Neurogenic Differentiation Factor 1 (ang)
QI	Quotient Intellectuel
QMPSF	Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent fragments (ang)
RCAD	Renal Cysts And Diabetes (ang)
TCF2	Transcriptor Factor 2 (ang)

INTRODUCTION

Les réarrangements génomiques du gène *HNF1B* (*TCF2*) situé en 17q12, sont bien connus des néphropédiatres comme étant à l'origine d'anomalies du développement rénal de transmission autosomique dominante. Les manifestations les plus caractéristiques sont l'hyperéchogénicité rénale et les kystes corticaux bilatéraux [1, 2]. Les manifestations extra rénales (diabète, atteinte hépatique, anomalies génitales) sont plus rarement décrites chez l'enfant. Une grande partie des patients suivis en néphropédiatrie et présentant une haploinsuffisance d'*HNF1B* sont actuellement inclus dans la cohorte Française de suivi longitudinal à long terme, afin de mieux connaître leur devenir (rénal, endocrinien, hépatique, pancréatique et génital) et d'harmoniser leur suivi.

L'objectif de ce travail est de déterminer s'il faut désormais associer, à cette prise en charge, un suivi neurologique. En effet, on constate depuis quelques années la multiplication des cas rapportés d'anomalies du développement neurologique et notamment des troubles du spectre autistique chez certains enfants présentant une atteinte du gène *HNF1B* [3-7].

Notre travail comprend deux chapitres : le premier est consacré à la présentation des données de la littérature concernant le gène *HNF1B* puis la région chromosomique 17q12 contenant le gène, le second chapitre correspond à la présentation de notre étude visant à décrire le phénotype neuropsychologique des enfants présentant une anomalie du gène *HNF1B* et notamment en cas de microdélétion 17q12.

L'ensemble des données recueillies permettra de préciser les connaissances médicales en fonction des anomalies génétiques constatées et ceci dans le but de mieux informer les familles et de mieux prendre en charge les enfants.

CHAPITRE 1 - GENERALITES

PREMIERE PARTIE - GENE HNF1B

I- *HNF1B* : DU GENE A LA PROTEINE

II- *HNF1B* SUR LE PLAN CLINIQUE

III- ANOMALIES GENETIQUES DE *HNF1B*

I- *HNF1B*: DU GENE A LA PROTEINE

A. Le gène

Le locus du gène *HNF1B* (*Hepatocyte Nuclear Factor-1 beta*) (OMIM 189907), également nommé *TCF2*, *vHNF-1* ou *LPB3* se situe sur le bras long du chromosome 17, en 17q12.

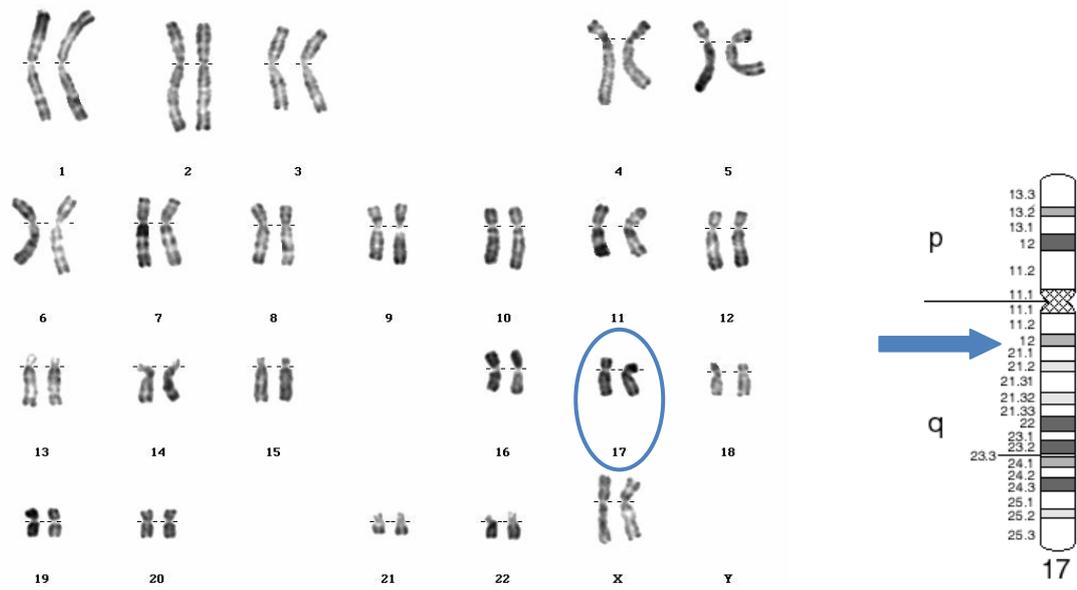


Figure 1 - Caryotype standard. Localisation du gène *HNF1B* en 17q12

Le gène, d'une taille totale de 58 663 paires de bases, comporte 9 exons.

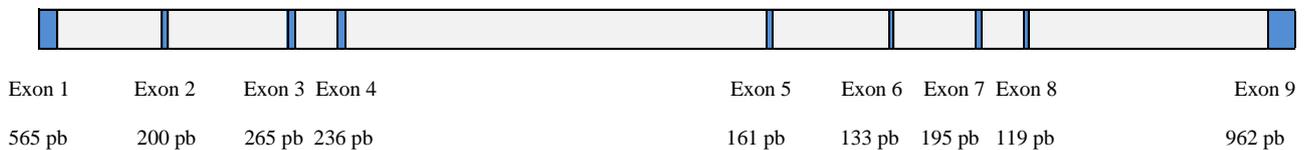


Figure 2 - Structure du gène *HNF1B*

Les exons (correspondant aux régions codantes du gène) sont représentés en bleu et les introns (correspondant aux régions non codantes) en blanc.

B. La protéine

1. Structure et fonction

Le gène code pour une protéine de 557 acides aminés, initialement isolée à partir des hépatocytes (d'où son nom d'Hépatocyte Nuclear Factor Beta), appartenant à la famille des homéoprotéines [8]. Sa structure comprend 3 domaines : un domaine de dimérisation amino terminal, un domaine de liaison à l'ADN nommé homéodomaine et un domaine carboxy-terminal nécessaire à la transactivation des promoteurs de gènes cibles.

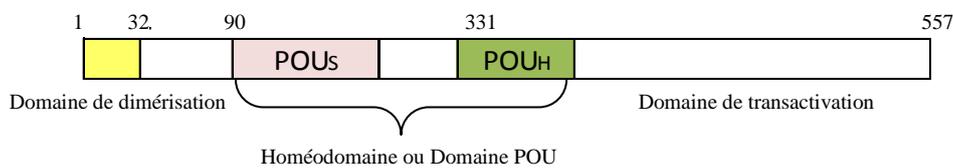


Figure 3 - Structure de la protéine HNF1B

L'homéodomaine ou domaine POU correspond à une séquence d'acides aminés commune à toutes les homéoprotéines, permettant la régulation de la transcription de certains gènes. Après avoir reconnu spécifiquement des régions régulatrices de certains gènes, elle s'insère dans le sillon de la double hélice de l'ADN et contribue à l'ouvrir pour la rendre transcriptionnellement active.

POU est un acronyme de Pit-1, Oct-2 et Unc-86, trois facteurs de transcription chez qui le domaine a d'abord été identifié. Le domaine POU est constitué de deux sous-domaines: un domaine spécifique à la famille POU (POU-s), et un homéodomaine (POU-H) [9].

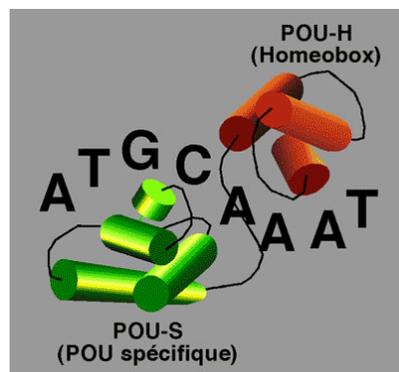


Figure 4 - Homéodomaine ou Domaine POU

HNF1B est un facteur de transcription pouvant se lier à l'ADN soit sous forme d'homéodimère, soit sous forme d'hétérodimère avec un autre facteur de transcription, nommé HNF1A, caractérisé par ses nombreuses homologues de forme [8].

2. Expression d'HNF1B

a) Expression embryonnaire

HNF1B joue un rôle important dans la différenciation de certains tissus au cours de la vie embryonnaire. Son expression a été étudiée chez 12 embryons ou fœtus humains, issus d'avortement spontané ou de mort fœtale *in utero*, par Kato et Motoyama en 2009. Il s'agissait de 5 fœtus masculins (âgés de 11 à 22 semaines de grossesse), 5 fœtus féminins (âgés de 18 à 37 semaines de grossesse) et 2 embryons de sexe indéterminé (âgés respectivement de 6 et 7 semaines de grossesse). Les analyses immunohistochimiques ont retrouvé la présence d'HNF1B dans le métanéphros (tubules rénaux), dans les dérivés des canaux de Wolff (canaux déférents et épидидyme), dans les canaux biliaires et au niveau pancréatique. En revanche HNF1B n'a pas été détecté dans les glomérules, dans le foie et dans les organes génitaux internes féminins (utérus, trompes et ovaires) [10]. Les auteurs n'ont pas retrouvé HNF1B dans ces organes car l'expression a lieu plus tôt, dès les phases les plus précoces du développement embryonnaire.

En effet, concernant le développement rénal, les études d'hybridation *in situ* réalisées sur modèle murin, ont permis de démontrer la présence de transcrits d'*HNF1B* dès J12 à J13 post conception, lors de la formation du bourgeon rénal à partir du canal de Wolff avec envahissement du mésenchyme métanéphrogène et différenciation des tubes rénaux en épithélium [11].

Le rôle d'HNF1B, au cours du développement embryonnaire des organes génitaux féminins, se limite à la phase précoce correspondant à la fusion des canaux de Müller qui a lieu avant la 10^{ème} semaine de grossesse. Des transcrits d'*HNF1B* ont été détectés dans les canaux de Müller d'un fœtus féminin à 8 semaine de grossesse par Haumaitre *et al.* en 2006 [12].

b) Expression tissulaire

La protéine est retrouvée dans de nombreux tissus présentant un épithélium polarisé : rein, pancréas, foie, intestin, thymus et gonades [13]. Au sein de ces tissus elle régule l'expression de gènes codant pour différentes protéines.

La formation des kystes rénaux s'explique par la diminution de l'activité transcriptionnelle des gènes *UMOD*, *PKHD1* et *PHD2*, secondaire à l'inactivation d'HNF1B. Ces gènes sont connus pour être impliqués dans des pathologies rénales kystiques [14].

c) Expression cérébrale : non déterminée chez l'homme

HNF1B a été détecté dans le rhombencéphale d'un poisson primitif, le zébrafish, par Sun *et al.* en 2001 et par Choe *et al.* en 2008 [15, 16]. Une étude très récente de 2011, a retrouvé HNF1B dans le rhombencéphale de modèles murin. HNF1B influencerait le développement du rhombencéphale, en partenariat avec un autre facteur de transcription nommé HOXA1. Les auteurs ont retrouvé une diminution de l'expression d'HNF1B dans le rhombencéphale postérieur des souris « knockout » pour HOXA1 [17].

Mais à ce jour, aucune étude fonctionnelle n'a identifié une expression du gène *HNF1B* au niveau cérébral chez l'homme.

II- *HNF1B* SUR LE PLAN CLINIQUE

La première publication d'anomalie du gène *HNF1B* est parue dans la revue *Nature Genetics* en décembre 1997. Il s'agissait d'une famille japonaise dont trois membres, sur deux générations successives, présentaient un diabète de type MODY (maturity-onset diabetes of the young) associé à une atteinte rénale compliquée d'insuffisance rénale chronique pour deux d'entre eux [18]. Par la suite de nombreuses publications ont retrouvé des anomalies du gène *HNF1B* chez des patients présentant ce type de diabète.

A. Diabète de type MODY

Le diabète de type MODY est une forme de diabète de survenue précoce, classiquement avant l'âge de 25 ans [19]. Il résulte classiquement d'une anomalie primaire de l'insulinosécrétion. On ne retrouve pas de marqueurs HLA, ni d'anticorps dirigés contre les cellules β . Il s'agit d'une affection monogénique, de transmission autosomique dominante. Les études génétiques ont permis de différencier 11 sous-types de MODY. Nous avons détaillé, dans le **tableau 1**, les 6 sous-types les plus fréquents. Ils sont tous liés à des mutations de gènes codant pour des

facteurs de transcription, à l'exception du MODY 2 du à une mutation hétérozygote du gène codant pour une enzyme, la glucokinase [20].

Tableau 1 - Les diabètes de type MODY les plus fréquents

	MODY 1	MODY 2	MODY 3	MODY 4	MODY 5	MODY 6
Gène	<i>HNF4α</i>	<i>GCK</i>	<i>HNF1 α</i>	<i>IPF-1</i>	<i>HNF1B</i>	<i>NeuroD1</i>
Localisation chromosomique	20q	7p	12q	13q	17q	
Début de l'hyperglycémie	adolescence	In utéro	adolescence	adolescence	adolescence	adolescence
Sévérité de l'hyperglycémie	progressive, peut être sévère	modérée, détérioration mineure avec l'âge	progressive, peut être sévère	non connu	progressive, peut être sévère	progressive, peut être sévère
Sévérité des complications	+++	+	+++	++	+++	+++

HNF : Hepatocyte Nuclear Factor ; *GCK*: glucokinase; *IPF-1*: Insulin Promoter Factor-1; *NeuroD1*: neurogenic Differentiation factor-1 (d'après S.Boullu-Sanchis, Métabolisme Hormone Diabète et Nutrition (VII), 2003)

Nous citerons simplement les 5 autres sous types : MODY 7 (gène *KLF11*), MODY 8 (gène *CEL*), MODY 9 (gène *PAX4*), MODY 10 (gène *INS*) et MODY 11 (gène *BLK*) [21].

Chaque sous-type de MODY a des particularités cliniques, biologiques et évolutives. Les MODY2 et MODY3 sont les plus fréquents [22].

Le diabète de type MODY 5 est associé à des anomalies du gène *HNF1B*. Il apparait chez des patients de poids normal. L'âge de découverte est dans 63% des cas avant 25 ans [23]. Il est associé à un déficit progressif de l'insulinosécrétion. Au cours de la vie, un traitement par insuline est nécessaire dans 77% des cas [23]. Enfin le MODY5 se caractérise par son association à des atteintes rénales et extra-rénales [24, 25].

B. Phénotype rénal du MODY 5

1. Chez l'adulte

En réalisant une revue de la littérature, Bingham et Hattersley ont constaté en 2004 que tous les patients adultes porteurs d'une mutation du gène *HNF1B* avaient une atteinte rénale alors que seulement 58% d'entre eux étaient diabétiques [25].

On retrouve une grande variabilité de l'expression rénale, les kystes rénaux corticaux constituant l'atteinte la plus fréquemment rapportée dans la littérature (**tableau 2**) [25]. L'association kystes rénaux / diabète, dans le cadre d'une mutation d'*HNF1b*, a été nommée syndrome RCAD (Renal Cysts And Diabetes) [26]. Les autres anomalies décrites sont l'hyperéchogénicité rénale, la réduction de la taille des reins, un rein en fer à cheval, un rein unique (par probable involution d'un rein dysplasique), une agénésie rénale bilatérale et des anomalies pyélocalicielles [24, 27] L'atteinte rénale est considérée comme l'élément phénotypique principal du MODY 5.

Tableau 2 - Phénotype rénal (Bingham et Hattersley, 2004) [25]

Présentation clinique		Sujets affectés
kystes rénaux		66%
histologie rénale	2%	oligoméganéphrose
	4%	dysplasie kystique
	7%	maladie kystique glomérulaire
	4%	atteinte non spécifique
	83%	examen histologique non réalisé
Morphologie rénale	2%	reins en fer à cheval
	2%	rein unique
Fonction rénale	86%	insuffisance rénale
	15%	dialysé ou greffé
	6%	fonction rénale normale

L'évolution vers l'insuffisance rénale chez l'adulte est lente, en moyenne la perte de filtration est de -1,1 ml/min par an [24].

Par ailleurs, des anomalies tubulaires peuvent être retrouvées telles qu'une hypomagnésémie ou une hypophosphatémie par fuite tubulaire [28] ou également une hyperuricémie par diminution de la fraction excrétée de l'acide urique responsable d'une goutte [29].

Enfin, des cas de cancer chromophile du rein ont été rapporté chez des patients porteurs d'une inactivation bi-allélique du gène [30-32]. Il est probable que *HNF1B* puisse fonctionner comme un gène suppresseur de tumeur [32]. A noter que la variation allélique du gène *HNF1B* est également considérée comme un facteur de risque de cancer de la prostate [33]

2. Chez l'enfant

Jusqu'en 2006 les anomalies cliniques liées à *HNF1B* étaient principalement décrites chez l'adulte. Seules des descriptions d'atteinte familiale évoquaient des cas pédiatriques [26, 34].

a) Phénotype rénal

C'est à l'équipe d'Ulinski *et al.* que nous devons la première description du phénotype rénal pédiatrique en cas d'anomalie du gène *HNF1B* [1]. Il s'agit d'une étude prospective, multicentrique, incluant 80 enfants sur une période de 2 ans. La sélection des enfants reposait sur la présence à l'échographie rénale d'un phénotype rénal particulier tel que la dysplasie multikystique unilatérale, la présence de kystes, la dysplasie ou hypoplasie bilatérale ou la présence d'un rein unique. Une anomalie du gène *HNF1B* a été retrouvée dans un tiers des cas. Les porteurs du gène altéré présentaient tous une atteinte rénale bilatérale, mais par ailleurs aucun n'était diabétique. Cet article souligne l'intérêt de rechercher une atteinte du gène *HNF1B* chez tous les enfants porteurs de kystes rénaux bilatéraux, en l'absence d'autre cause familiale connue de maladie kystique et avec ou sans altération du métabolisme glucidique.

Contrairement aux formes découvertes chez l'adulte, dont l'évolution vers insuffisance rénale terminale est lente, l'enfant peut présenter des formes sévères d'insuffisance rénale précoce [35].

b) Phénotype anténatal

En anténatal, l'altération du gène *HNF1B* représente la principale cause d'hyperéchogénicité rénale bilatérale avec ou sans kystes.

Ceci a été démontré par Decramer *et al.* en 2007 : sur 62 fœtus présentant une hyperéchogénicité rénale, 18 (soit 29%) présentaient une anomalie du gène *HNF1B* [2].

C. Atteintes extra-rénales

Chen *et al.* ont publié en 2010 une revue de la littérature sur les manifestations cliniques associées au gène *HNF1B*, comprenant 49 articles publiés entre 1997 et 2008 [23]. L'étude a porté sur 211 patients, dont 63% avaient moins de 25 ans. En plus de l'atteinte rénale (189/211 patients soit 89,6%) et du diabète (95/211 patients soit 45%), l'haploinsuffisance du gène *HNF1B* peut être à l'origine d'anomalies pancréatiques, hépatiques et génitales.

a) Anomalies pancréatiques

L'atteinte du gène *HNF1B* peut provoquer une insuffisance pancréatique exocrine, avec diminution de l'élastase fécale (6,6%) et/ou des anomalies malformatives, incluant une atrophie pancréatique, des calcifications de la tête du pancréas et la présence de kystes (10,4%). L'existence de kystes n'a été rapportée qu'une seule fois: le patient présentait un volumineux kyste de la tête du pancréas (33mm x 28mm) [23].

b) Anomalies hépatiques

L'atteinte hépatique se caractérise par une élévation modérée des enzymes hépatiques (transaminases, gamma glutamyl transférase, phosphatase alcaline) (15,2%).

On peut retrouver des cas de dyslipidémie (9,4%).

Quelques anomalies malformatives sont décrites (4,3% soit 9/211), il s'agit de rares cas de cholestase (4/9), de paucité des voies biliaires intra hépatiques (2/9), d'hépatomégalie (2/9), de stéatose (2/9) et de fibrose hépatique (2/9) [23].

c) Anomalies génitales

Chez la femme on retrouve des anomalies (18,2%) résultant soit d'une aplasie soit d'une anomalie de fusion des canaux de Müller telles que l'utérus bicorne, l'utérus didelphe, le double vagin, l'utérus rudimentaire, l'hémiutérus ou l'aplasie vaginale [23].

Chez l'homme les anomalies génitales (9,9%) sont dues à l'atteinte des résidus de Wolff. Les plus fréquentes sont l'agénésie des canaux déférents et les kystes bilatéraux de l'épididyme. Des cas d'asthénospermie, d'hypospadias et de cryptorchidie sont également rapportés [23].

Les anomalies génitales secondaires à une mutation d'*HNF1B* semblent toujours associées aux anomalies rénales. En 2010, Oram *et al.* ont recherché une atteinte du gène *HNF1B* chez 108 femmes dont 58 présentaient des anomalies utérines isolées et 50 avaient des anomalies utérines et rénales associées. Une anomalie du gène *HNF1B* a été constatée chez 18% des femmes présentant à la fois des atteintes génitales et rénales, par contre aucune femme n'était porteuse d'une atteinte de ce gène dans le groupe avec les anomalies génitales isolées [36].

- **Cas pédiatriques d'anomalies extra rénales : revue de la littérature**

Le phénotype clinique est évolutif au cours du temps. Les atteintes extra rénales peuvent apparaître dès l'enfance. Nous avons regroupé dans le **tableau 3** les cas d'atteintes extra rénales retrouvés dans la littérature.

Tableau 3 - *HNF1B* et atteintes extra rénales pédiatriques

Atteinte extra rénale	Age de découverte	Sexe	Publication
Cholestase néonatale	NN	M	Kitanaka <i>et al.</i> 2004 [37]
Dyslipidémie	17 ans	F	Shihara <i>et al.</i> 2004 [35]
Diabète MODY5	NN	F	Yorifuji <i>et al.</i> 2004 [38]
	5 ans	M	Beckers <i>et al.</i> 2006 [39]
	12 ans	?	Decramer <i>et al.</i> 2007 [2]
	12 ans	F	Raile <i>et al.</i> 2009 [7]
	13 ans	M	Weber <i>et al.</i> 2006 [40]
	13 ans	M	Raile <i>et al.</i> 2009 [7]
	13 ans	F	Edghill <i>et al.</i> 2006 [41]
	13 ans	F	Raile <i>et al.</i> 2009 [7]
	15 ans	M	Raile <i>et al.</i> 2009 [7]
	16 ans	F	Raile <i>et al.</i> 2009 [7]
Atrophie pancréatique	18 ans	J	Decramer <i>et al.</i> 2007 [2]
	16 ans	M	Beckers <i>et al.</i> 2006 [39]
	16 ans 1/2	F	Raile <i>et al.</i> 2009 [7]
Hypospadias	NN	M	Bingham <i>et al.</i> 2002 [34]
Utérus bicorne	17 ans	F	Shihara <i>et al.</i> 2004 [35]
	15 ans	F	Raile <i>et al.</i> 2009 [7]
Hémi-utérus et ovaire unique	3 ans	F	Edghill <i>et al.</i> 2006 [41]

Enfin dans leur revue de la littérature, Chen *et al.* ont évoqué l'existence de rares cas de retard mental [23].

Raile *et al.* en 2009 et Loirat *et al.* en 2010 ont rapporté respectivement 2 cas de retard de développement et 3 cas d'autisme chez des enfants porteurs d'une anomalie du gène *HNF1B* [3, 7].

III- ANOMALIES GENETIQUES DE *HNF1B*

A. Mutations de *HNF1B*

La première anomalie génétique identifiée a été une mutation ponctuelle du gène par séquençage en 1997 [18].

En 2006, on recensait 40 mutations ponctuelles du gène *HNF1B* dans 46 familles. La plupart ont été retrouvées dans les exons 2 et 4 qui correspondent au domaine de liaison à l'ADN (domaines POU_S et POU_H) [41].

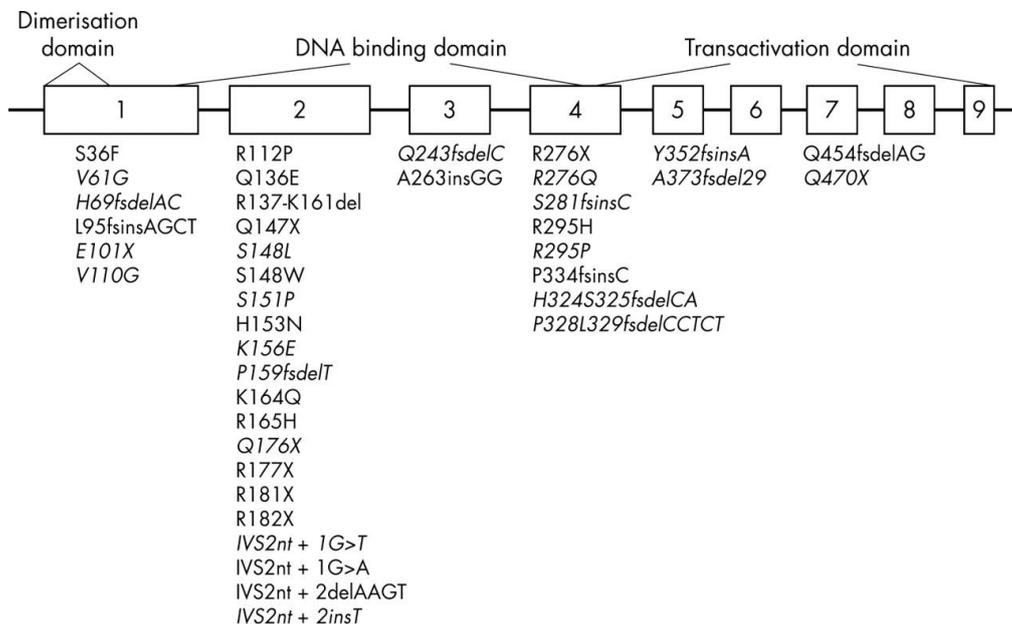


Figure 5 - Localisation des mutations par Edghill *et al.* en 2006 [41]

A ce jour, aucune mutation n'a été rapportée dans les exons 6,8 et 9 [23].

Différents types de mutation ont été décrits : mutation non sens (changement d'un nucléotide par un autre), mutation faux sens (apparition d'un codon stop), insertion délétion substitution d'acide aminé (ou mutation frameshift par décalage du cadre de lecture) et mutation d'un site d'épissage (défaut d'excision d'intron) [1, 24, 26, 42].

Les mutations faux sens représentent le mécanisme mutationnel le plus souvent décrit. Lors d'une revue de la littérature réalisée de 1997 à 2008, Chen *et al.* en ont recensé 41,8% sur l'ensemble des cas publiés : soit 28 mutations faux sens sur les 67 mutations rapportées dans la littérature, chez 184 patients [23].

Chen *et al.* ont tenté d'établir des corrélations phénotype génotype entre le type de mutation et les signes cliniques (**Tableau 4**) [23].

- Les anomalies rénales étaient associées le plus souvent aux mutations d'un site d'épissage.
- Le diabète était surtout retrouvé en cas de mutation non sens.

Tableau 4 - Phénotype clinique en fonction du type de mutation (n(%)). Chen *et al.* 2010 [23]

Parameters	Total (n=143)	Missense (n=44)	Nonsense (n=36)	Frameshift (n=34)	Splice-site (n=29)	P values
RSA	124 (86.7)	32 (72.7)	32 (88.9)	32 (94.1)	28 (96.6)*	0.013
IRF	78 (54.5)	17 (38.6)	18 (50.0)	24 (70.6) [†]	19 (65.5)	0.021
DM	72 (50.3)	29 (65.9) [‡]	17 (47.2)	11 (32.4)	15 (51.7)	0.032
Insulin	48 (33.6)	18 (40.9)	12 (33.3)	7 (20.6)	11 (37.9)	0.275

RSA: renal structural anomalies; IRF: impaired renal function; DM: diabetic mellitus. Test does not include in-frame deletion (n=5), single exon duplication (n=3), and single exon deletion (n=2). *Missense vs. Splice-site (P=0.008). [†]Frameshift vs. Missense (P=0.005). [‡]Missense vs. Frameshift (P=0.003).

En revanche ils ont pas retrouvé d'associations significatives entre la localisation de la mutation et les signes cliniques (**tableau 5**).

Tableau 5 - Phénotype clinique en fonction de la localisation de la mutation (n(%)). [23]

Parameters	Total (n=153)	Dimer (n=11)	POU _S (n=86)	POU _H (n=27)	Trans (n=29)	P values
RSA	132 (86.3)	8 (72.7)	78 (90.7)	24 (88.9)	22 (75.9)	0.096
IRF	87 (56.9)	3 (27.3)	53 (61.6)	16 (59.3)	15 (51.7)	0.165
DM	77 (50.3)	4 (36.4)	48 (55.8)	14 (51.9)	11 (37.9)	0.296
Insulin	51 (33.3)	4 (36.4)	33 (38.4)	10 (37.0)	4 (13.8)	0.103

Dimer: Dimerization domain; POU_S: POU_S domain; POU_H: POU_H domain; Trans: Transactivation domain; RSA: renal structural anomalies; IRF: impaired renal function; DM: diabetic mellitus.

La plupart des mutations sont familiales, certaines sont sporadiques [24, 26] un cas de mosaïque germinale a également été rapporté par Yorifuji *et al.* en 2004, chez un frère et une sœur (mutation non-sens de l'exon 2) [38].

B. Délétion du gène *HNF1B*

L'imputabilité d'une délétion génomique emportant un ou plusieurs exons d'*HNF1B* a été évoquée pour la première fois en 2005 par Bellanné-Chantelot *et al.*, suite à la constatation suivante : dans 60% des cas, le séquençage ne retrouve pas de mutation alors que le phénotype du patient est pourtant fortement évocateur d'un MODY5 [30].

En effet, les grandes délétions (d'un exon ou plus) ne sont pas décelables par séquençage, il faut recourir à des techniques plus appropriées, comme par exemple l'étude des 9 exons par

QMPSF (quantitative multiplex PCR of short fluorescent fragments) [30]. Le principe du test est d'amplifier les différents exons du gène en une seule PCR (PCR "multiplexe"). Chaque exon est amplifié à l'aide d'un couple d'oligonucléotides dont un est marqué par un fluorochrome, de façon à détecter le produit de PCR par fluorescence sur un séquenceur automatique. Les tailles des produits de PCR sont différentes d'un exon à l'autre de façon à pouvoir les identifier. On réalise simultanément la PCR de l'ADN du patient à tester et de l'ADN d'un individu témoin dont on sait qu'il ne porte pas de délétion. La superposition des signaux de fluorescence du témoin et du patient permet de détecter des grandes délétions à l'état hétérozygote.

Les 9 exons du gène ont été amplifiés dans le même tube. Le signal bleu correspond au témoin, le signal rouge correspond au patient (**Figure 6**). Le patient A présente une délétion complète du gène, les 9 exons sont délétés à l'état hétérozygote (la taille des pics bleu équivaut à la moitié de la taille des pics rouge). Le patient B présente une délétion limitée à l'exon 5 du gène (la taille du pic bleu, correspondant à l'exon 5, équivaut à la moitié de la taille du pic rouge).

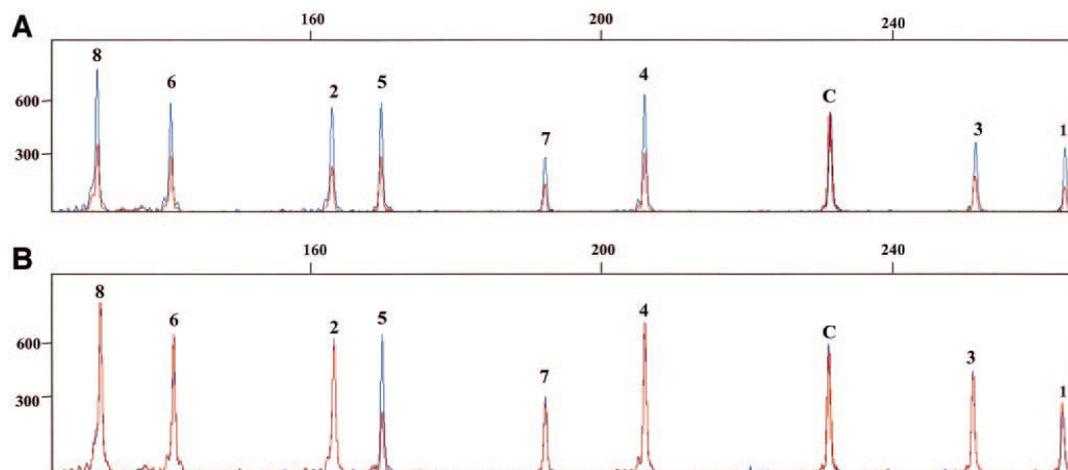


Figure 6 - Etude du gène *HNF1B* par technique de QMPSF Bellanné *et al.* 2005 [30]

Ainsi par cette technique, Bellanné-Chantelot *et al.* ont pu diagnostiquer chez 40 patients adultes présentant un MODY5 : 9 délétions complètes du gène (des 9 exons) et 1 délétion d'un exon (de l'exon 5), en plus des 18 mutations ponctuelles retrouvées initialement par séquençage.

D'autres cas de délétion d'un exon ont été rapportés dans la littérature, il s'agit de cas de délétion de l'exon 4 [1, 43, 44].

A partir d'une cohorte de 377 patients pédiatriques présentant des atteintes rénales, Heidet *et al.* en 2010, ont constaté une anomalie du gène *HNF1B* dans 19,9% : 42 patients présentaient une délétion complète du gène, 1 patient avait une délétion limitée à l'exon 4, et 32 patients

présentaient une mutation ponctuelle. Selon cette étude récente la proportion de sujets pédiatriques porteurs d'une délétion complète du gène semble légèrement supérieure à celle présentant une mutation ponctuelle [43].

Pour définir la taille de la région délétée, l'équipe de C Bellanné-Chantelot a recherché la présence ou l'absence de plusieurs séquences spécifiques appelées microsatellites situés de part et d'autre du gène. Par cette technique, la taille minimale de la délétion a été estimée à 1,2 mégabases [30]. Rappelons que la taille du gène n'est que de 58 663 paires de bases, ceci sous entend que la délétion ne se limite pas à un seul gène mais concerne plusieurs gènes adjacents, réalisant de se fait une microdélétion chromosomique dans la région 17q12.

(1 million de paires de bases = 1 mégabase ou 1 Mb)

Cette constatation a été confirmée ultérieurement dans plusieurs publications, après identification d'une délétion des 9 exons du gène *HNF1B*, les auteurs ont recherché la taille de la délétion en utilisant des microsatellites ou par CGH array (**tableau 6**).

Tableau 6 - Etude de la taille de la délétion 17q12 après identification d'une délétion du gène *HNF1B*. Revue de la littérature

Publication	Taille de la microdélétion	Nombre de patients analysés
Bellanné <i>et al.</i> en 2005	>1,2 Mb	9
Ulinski <i>et al.</i> en 2006	>1,2 Mb	14
Mefford <i>et al.</i> en 2007	1,8 Mb	7
Edghill <i>et al.</i> en 2008	>1,2 Mb	15
Raile <i>et al.</i> en 2009	1,3 à 1,7 Mb	5
Nakayama <i>et al.</i> en 2010	1,4 Mb	3

Références : [1, 4, 7, 27, 30, 44]

Dans les cas de délétion du gène *HNF1B*, nous pouvons constater qu'à chaque fois que la taille de la délétion a été analysée par des techniques de biologie moléculaire, une large délétion de 1,2 à 1,8 Mb a été retrouvée pour chaque patient.

Notions importantes

Chez l'enfant, l'haploinsuffisance du gène *HNF1B* est principalement associée à des atteintes rénales. Des anomalies pancréatiques, hépatiques et génitales peuvent également être retrouvées. Le phénotype clinique est évolutif au cours du temps. Comparativement au nombre d'articles publiés, les troubles neurologiques semblent peu fréquents.

Il existe deux types d'anomalies génétiques : les mutations et les délétions du gène. Lorsque la taille de la délétion a été étudiée, les auteurs ont systématiquement retrouvé une large délétion en 17q12 incluant le gène *HNF1B* et des gènes adjacents.

DEUXIEME PARTIE - REGION 17q12

- I- REVUE DE LA LITTERATURE : MICRODELETION
ET MICRODUPLICATION 17q12**
- II- UNE REGION A RISQUE DE REARRANGEMENT
GENOMIQUE**
- III- LES GENES DE LA REGION 17q12**

I- REVUE DE LA LITTÉRATURE : MICRODELETION ET MICRODUPLICATIONS 17q12

Dans cette seconde partie, nous nous sommes intéressés aux publications décrivant un remaniement génomique en 17q12 : une microdélétion ou une microduplication de cette région chromosomique. La mise en évidence d'un large remaniement génomique a permis aux auteurs d'incriminer le gène *HNF1B* parmi l'ensemble des gènes impliqués dans le remaniement. Il s'agit du raisonnement inverse par rapport aux publications citées précédemment: dans la première partie de notre travail, les auteurs ont tout d'abord identifié une anomalie du gène *HNF1B* puis recherché la taille de la région concernée en cas de délétion, alors que dans cette seconde partie, les auteurs ont mis en évidence un remaniement génomique en 17q12 puis identifiés les gènes impliqués.

Ces remaniements ont été mis en évidence par hybridation génomique comparative sur puce à ADN ou CGH array. Cette technique permet de mettre en évidence des variations de nombre de copie (délétions ou duplications) en analysant un grand nombre de fragments d'ADN du génome.

Une analyse systématique, des articles publiés sur la présentation clinique des remaniements 17q12, est présentée par ordre chronologique dans la suite de ce chapitre.

- En **2006**, **Müller *et al.*** [45] ont retrouvés par CGH array une délétion de 1,4 Mb en 17q12 chez un enfant présentant une atteinte rénale sévère (avec kystes rénaux bilatéraux et insuffisance rénale chronique nécessitant une transplantation rénale après échec de l'hémodialyse), un retard staturo-pondéral, un retard pubertaire, une dyslipidémie, un retard psychomoteur, un retard de langage et des traits autistiques. Tout en faisant référence à la publication d'Ulinski *et al.* de 2006 [1] (large microdélétion en 17q12 mise en évidence chez 14 patients présentant une délétion d'*HNF1B*) les auteurs évoquent l'existence d'un nouveau syndrome microdélétionnel en 17q12.
- En **2007**, en réalisant une analyse moléculaire par CGH array de 155 fœtus présentant une ou plusieurs anomalies congénitales, **Mefford *et al.*** [4] ont retrouvé plusieurs réarrangements génomiques dont une délétion en 17q12 de 1,8Mb, incluant le gène *HNF1B*, chez un fœtus porteur de kystes rénaux. Devant l'existence de cas de duplication réciproque en 17q12 (**Sharp *et al.* 2006**) [46] chez des patients présentant

un retard mental, les auteurs soulignent l'existence d'une région à risque de réarrangements génomiques récurrents en 17q12. Les délétions 17q12 sont considérées comme le premier exemple de remaniement génomique récurrent associé à un diabète.

- En **2008**, en réalisant une CGH array 105K chez 84 patients présentant des anomalies congénitales multiples associées à un retard mental sévère, **Mencarelli *et al.*** [47] ont mis en évidence un cas de duplication 17q12, de 1,8 Mb, incluant le gène *HNF1B*. Il s'agissait d'un jeune homme de 15 ans qui présentait des anomalies ophtalmologiques (syndrome de Peter, microphthalmie et glaucome), une atteinte cardiaque (communication intra-auriculaire), une fente palatine, une brachymésophalangie et clinodactylie du V^{ème} doigt, associés à un retard mental sévère. Curieusement cet enfant présentait également une réversion sexuelle avec un caryotype de type féminin : 46, XX, sans anomalie associée des gènes *SRY*, *WT1* et *PAX6*. La même duplication en 17q12 a été retrouvée chez deux autres membres de la famille : son père en bonne santé et sa sœur présentait uniquement des troubles du comportement.
- En **2009**, **Bernardini *et al.*** [48] ont rapporté le cas de deux patientes présentant un syndrome de Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser secondaire à une délétion de 1,5Mb en 17q12. Ce syndrome se caractérise par un développement anormal des canaux de Müller responsable d'une aplasie congénitale de l'utérus et de la partie supérieure du vagin. Une dysplasie rénale multikystique a également été notée chez une des patientes. Le développement psychomoteur était normal pour les deux patientes, contrairement au cas de délétion 17q12 publié par **Cheroki *et al.*** en **2008** [49] qui soulignait l'existence d'une épilepsie et de difficultés d'acquisition chez une patiente présentant un syndrome de Mayer-Rokitansky-Kauster-Hauser avec une aplasie congénitale de l'utérus sans anomalie rénale et sans diabète associé.
- En **2009**, **Nagamani *et al.*** [6] ont décrit le phénotype clinique de quatre patients atteints d'une délétion 17q12 et de cinq patients atteints d'une duplication réciproque. Ces résultats élargissent le spectre phénotypique associé aux réarrangements chromosomiques 17q12, en montrant notamment que les individus atteints de délétions 17q12 peuvent présenter un retard de développement et des troubles cognitifs, de la même manière que les patients porteurs de duplications réciproques sont à risque d'épilepsie et de retard mental.

- Le syndrome de Prune Belly se caractérise par une hypoplasie des muscles de la paroi abdominale, une cryptorchidie bilatérale et des anomalies urinaires. **Haeri et al.** [50] publient en **2010**, le cas d'un enfant, porteur d'une délétion *de novo* en 17q12 de 1,3 Mb, présentant un syndrome de Prune Belly. En raison de l'existence d'un cas similaire publié chez un sujet adulte (**Murray et al. 2008**) [51], l'imputabilité du gène *HNF1B* dans le syndrome de Prune Belly est évoquée dans cet article.
- En **2010**, **Moreno-De-Luca et al.** [5] , ont retrouvé une délétion récurrente de 1,4 Mb en 17q12 chez 18 patients (5 femmes et 13 hommes), à partir d'une cohorte de 15749 patients présentant des troubles neuropsychologiques (troubles du spectre autistique et schizophrénie). Les auteurs ont pu obtenir des renseignements cliniques complets pour 9 des 18 patients. Des signes physiques mineurs associés aux délétions 17q12 sont rapportés pour la première fois, à savoir : macrocéphalie, fentes palpébrales obliques en bas et en dehors, sourcils hauts et arqués, épicanthus (repli cutané de l'angle interne de l'œil), dépression de la racine du nez et hypoplasie malaire (**figure 7**). Des troubles génito-urinaires étaient retrouvés chez la plupart des patients (chiffre exact non précisé), un seul présentait un diabète [5]. Les délétions 17q12 sont, dans cet article, comme un facteur de risque de troubles du spectre autistique et de schizophrénie.

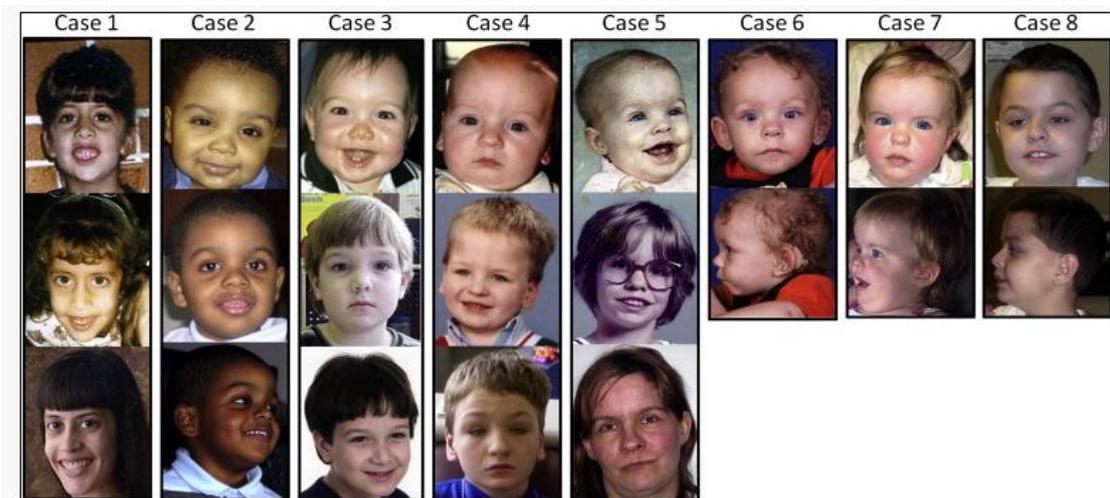


Figure 7 - Photographies des patients avec une microdélétion 17q12 par Moreno-De-Luca et al. 2010

- En réalisant une étude du génome de 180 patients présentant une schizophrénie, **Magri et al.** en **2010** [52] ont retrouvé de façon ponctuelle un cas de délétion 17q12.

- Des duplications 17q12 ont été associées à des cas de schizophrénie, de retard mental, d'autisme, d'épilepsie mais jamais à des anomalies rénales. **Faguer et al.**[53] rapportent pour la première fois en **2011**, le cas d'une famille dont 2 membres (un père et son fils), porteurs d'une duplication 17q12, présentent des anomalies rénales, sans trouble neurologique associé. L'enfant est également porteur d'une atrésie de l'œsophage de type C.
- En **2011**, en réalisant une CGH array chez 12 fœtus porteur d'une hernie diaphragmatique congénitale, **Machado et al.** [54] ont retrouvé 2 cas de duplication 17q12. Cette association n'avait jamais été rapportée auparavant dans la littérature.

Par cette étude de la littérature nous pouvons constater que les remaniements génomiques (microdélétion ou microduplication) de la région 17q12 incluant le gène *HNF1B* ont été associés à un large spectre d'anomalies phénotypiques, incluant des malformations congénitales multiples et notamment des anomalies rénales, génitales et pancréatiques. Le point important à souligner est l'existence de troubles du développement neuropsychologique.

Cette revue de la littérature comprend 41 patients dont 3 fœtus. L'analyse des données cliniques retrouve des anomalies neurologiques chez 30 patients sur 38, soit chez 79% des patients présentant un remaniement génomique en 17q12.

Des cas de retard mental et d'épilepsie ont été associés aux microduplications 17q12. Pour les microdélétions 17q12, on constate de nombreux cas rapportés de retard de développement psychomoteur, de retard de langage, de troubles cognitifs et de troubles neuropsychologiques.

La microdélétion 17q12 fait partie des nouveaux syndromes microdélétionnels détectés par CGH array et rapportés par Slavotinek en 2008 [55].

Nous nous sommes intéressés à la taille de la région impliquée afin de la comparer à celle retrouvée dans les publications citées dans la première partie de notre travail, qui avaient comme objectif de borner la délétion retrouvée par le biais de l'étude du gène (**tableau 7**).

Tableau 7 – Microdélétion (Del) / microduplication (Dup) en 17q12 : taille du remaniement génomique

Publication	Type de remaniement	Taille	Nombre de patients
Müller <i>et al.</i> 2006	Del	1,4 Mb	1
Mefford <i>et al.</i> 2007	Deel	1,8 Mb	1
Mencarelli <i>et al.</i> 2008	Dup	1,8 Mb	1
Bernardini <i>et al.</i> 2009	Del	1,5 Mb	2
Nagamani <i>et al.</i> 2009	Del	1,06 à 2,46 Mb	4
Nagamani <i>et al.</i> 2009	Dup	1,06 à 2,46 Mb	5
Haeri <i>et al.</i> 2010	Del	1,3 Mb	1
Moreno-De-Luca <i>et al.</i> 2010	Del	1,4 Mb	18
Faguer <i>et al.</i> 2011	Dup	1,5 Mb	2
Machado <i>et al.</i> 2011	Dup	1,4 à 1,5 Mb	2

Références : [4-6, 45, 47, 48, 50, 53, 54]

Ces données sont superposables à celles retrouvées dans la première partie. Les variations de la taille du remaniement génomique 17q12 dépendent de la position des points de cassure de part et d'autre du gène *HNF1B*. Nous allons préciser cette notion dans le paragraphe suivant.

II- 17q12 : REGION A RISQUE DE REARRANGEMENT GENOMIQUE

L'existence à la fois de cas de microdélétion et de microduplication réciproque d'une région chromosomique donnée est très évocateur d'un mécanisme de mésappariement interchromosomique, nommé mécanisme de recombinaison homologue non-allélique (NAHR) [56]. Lors de la méiose, les réarrangements chromosomiques ne se produisent pas au hasard mais surviennent dans des régions contenant des séquences répétées au cours de l'évolution, appelées LCR (Low copy repeat), duplications segmentaires ou duplicons [57]. D'une longueur de 1 à 400kb, ces blocs d'ADN ont une forte homologie de séquence

(supérieur à 90%) [58]. Une recombinaison anormale entre deux duplons entraîne la perte ou la duplication du segment chromosomique situé entre les deux séquences répétées, avec une fréquence théoriquement identique. En pratique, on détecte plus de microdélétions que de microduplications [59]. L'explication classiquement proposée est l'existence d'un retentissement moindre sur le phénotype en cas de microduplication. Les duplications seraient, par conséquent, sous diagnostiquées. Turner *et al.* en 2008 ont proposé une autre hypothèse en constatant que le nombre de gamètes males détectés avec une microduplication était moins important qu'avec une microdélétion. Le mécanisme à l'origine de cette répartition inégale reste inconnu [60].

L'analyse de la littérature concernant les remaniements génomiques 17q12 met en évidence des cas de microdélétions et de microduplications réciproques de taille similaire [4-6, 47, 53]. L'analyse de points de cassure retrouve des séquences particulièrement sujettes à des réarrangements en raison d'une forte homologie [5, 61]. Il s'agit de gènes de la famille des TBC1 domaine qui activent la fonction GTPase de petites protéines G : les protéines RAB (RAB5A). Ces protéines sont des monomères non liés à la membrane qui contrôlent la transduction de signaux d'un récepteur sur la surface cellulaire vers une cible intracellulaire [62, 63].

- gène *TBC1D3B* (localisation : 34,4 Mb)
- gène *TBC1D3C* (localisation : 34,5 Mb)
- gène *TBC1D3H* (localisation : 34,5 Mb)
- gène *TBC1D3G* (localisation : 34,7 Mb)
- gène *TBC1D3F* (localisation : 36,2 Mb)
- gène *TBC1D3* (localisation : 36,3 Mb)

Aussi, il semble très probable que ces séquences répétées constituent la base moléculaire de ces remaniements chromosomiques récurrents par un mécanisme de NAHR (**Figures 8 et 9**).

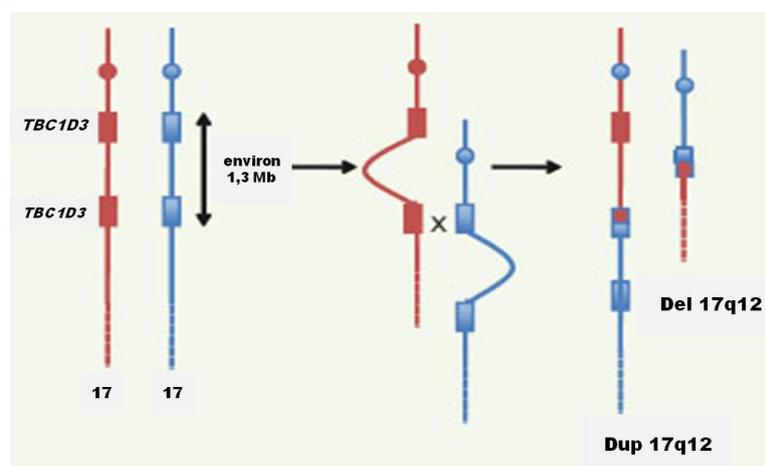


Figure 8 - Mécanisme de NAHR (recombinaison non allélique homologue) en 17q12

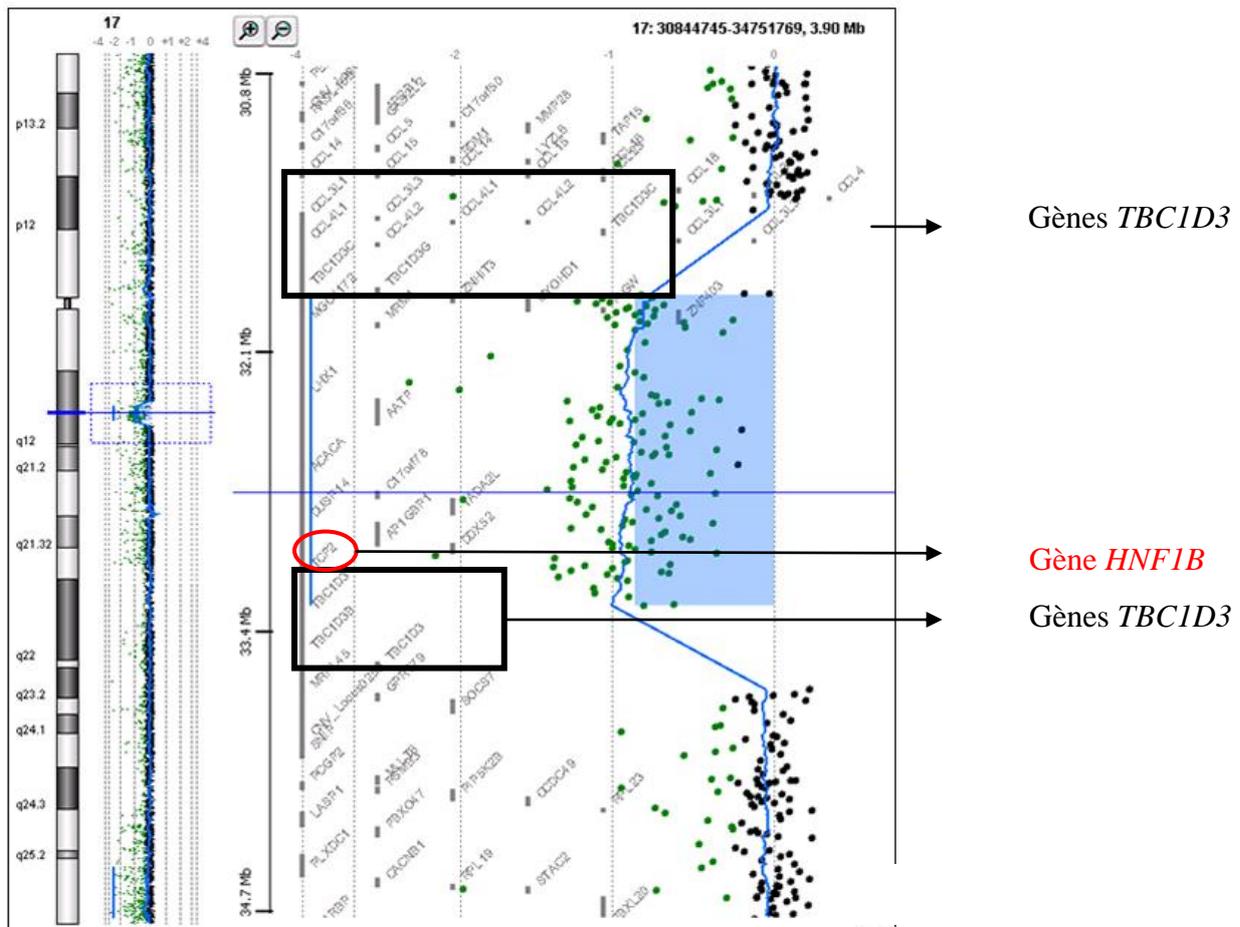


Figure 9 - Délétion 17q12 par CGH array (UCSC Genome Browser; <http://genome.ucsc.edu>, March 2006 Release). Bernardini *et al.*, 2009 [48]

Le chromosome 17, comprend de nombreuses régions présentant cette particularité. L’histoire du chromosome 17 au cours de l’évolution a été étudiée par Cardone *et al.* en 2008. En comparant l’organisation de ce chromosome au niveau moléculaire chez l’homme et chez le macaque, ils ont démontré que de nombreuses transpositions duplicatives se sont produites au cours de l’évolution dans la lignée humaine [61]. La présence de ces répétitions prédispose aux réarrangements chromosomiques [64].

Plusieurs syndromes associés à des microdélétions ou des microduplications secondaires à un mécanisme de NAHR sont portés par le chromosome 17. Citons par exemple le syndrome de Smith Magenis (délétion 17p11.2), le syndrome de Potocki Luspki (duplication 17p11.2), la maladie de Charcot Marie Tooth type 1A (duplication 17p11.2p12), la neurofibromatose de type 1 (délétion 17q11.2) ou encore la microduplication 17q21.31.

III- LES GENES DE LA REGION 17q12

La région concernée en 17q12 comprend 15 gènes incluant le gène *HNF1B*. Le nom, la position et la fonction des gènes sont reportés dans le **tableau 8**.

Tableau 8 - Région 17q12: les gènes impliqués

Gène	Nom	Position	Fonction, rôle
ZNHIT3	Zinc-finger HIT type 3	34.8 Mb	Régulation de la transcription
MYO19	Myosine	34.8 Mb	Protéine du cytosquelette
PIGW	Phosphatidylinositol glycan, class W	34.8 Mb	Protéine enzymatique du RE
GGNBP2	Gametogenetin binding protein 2	34.9 Mb	Spermatogénèse
DHRS11	Dehydrogenase / reductase (SDR family) member 11	34.9 Mb	Oxydo-réduction
MRM1	Mitochondrial rRNA methyltransferase 1 homolog	34.9 Mb	Protéine enzymatique mitochondriale
LHX1	LIM homeobox protein 1	35.2 Mb	Facteur de transcription
AATF	Apoptosis antagonizing transcription factor	35.3 Mb	Facteur de transcription impliqué dans l'apoptose
ACACA	Acetyl-coenzyme A carboxylase alpha	35.4 Mb	Homéostasie cellulaire
C17orf78	Chromosome 17 open reading frame 78	35.7 Mb	Protéine membranaire ?
TADA2A	Transcriptional adaptor 2A	35.7 Mb	Compaction de l'ADN
DUSP14	Dual specificity protein phosphatase 14	35.8 Mb	?
SYNRG	Synergine, gamma	35.8 Mb	Fixateur de calcium impliqué dans l'endocytose
DDX52	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 52	35.9 Mb	Réparation de l'ADN
HNF1B	Hepatocyte nuclear factor 1-beta	36.0 Mb	Facteur de transcription

RE : réticulum endoplasmique

L'implication potentielle des différents gènes de la région 17q12 dans le phénotype neuropsychologique sera développée ultérieurement dans le second chapitre de ce travail.

CHAPITRE 2 - ETUDE

I- OBJECTIFS DE L'ETUDE

L'analyse des données de la littérature permet de faire deux 2 constatations principales :

1. la délétion du gène *HNF1B* semble faire partie le plus souvent d'une microdélétion chromosomique de la région 17q12. En effet, à chaque fois que l'étude génétique a été réalisée, les résultats ont montré que les patients avec une délétion du gène, découverte dans un contexte de maladie rénale ou de MODY5, présentaient le même réarrangement génomique que ceux avec une microdélétion 17q12, diagnostiquée dans un contexte de troubles neurologiques.
2. la multiplication de cas rapportés de troubles du développement neurologique en cas de microdélétion 17q12, alors que les atteintes neurologiques n'apparaissent pas au premier plan chez les patients présentés comme ayant seulement une délétion du gène (**tableau 9**).

Tableau 9 - Troubles neuropsychologiques associés à une microdélétion 17q12 : cas pédiatriques

Troubles neurologiques	Age	Sexe	Taille de la délétion	Publication
Difficultés d'apprentissage et retard psychomoteur	18 ans	M	1,59 Mb	Raile <i>et al.</i> 2009 [7]
	15 ans	F	1,55 Mb	Raile <i>et al.</i> 2009 [7]
	5 ans 6 m	M	?	Nagamani <i>et al.</i> 2009 [6]
Epilepsie et retard des acquisitions	13 ans	F	1,4 Mb	Nagamani <i>et al.</i> 2009 [6]
	18 ans	F	?	Nagamani <i>et al.</i> 2009 [6]
Autisme	3 ans 5 m	M	1,49 Mb	Loirat <i>et al.</i> 2010 [3]
	3 ans 8 m	M	1,85 Mb	Loirat <i>et al.</i> 2010 [3]
	9 ans	M	1,85 Mb	Loirat <i>et al.</i> 2010 [3]
Retard de langage	1 an 10 m	F	1,4 Mb	M-D-L <i>et al.</i> 2010 [5]
	4 ans	M	1,4 Mb	Müller <i>et al.</i> 2006 [45]
Retard mental, retard de langage, troubles autistiques, troubles du comportement	1 an 9 m	M	1,4 Mb	M-D-L <i>et al.</i> 2010 [5]
	4 ans	M	1,4 Mb	M-D-L <i>et al.</i> 2010 [5]
	7 ans	M	1,4 Mb	M-D-L <i>et al.</i> 2010 [5]
	10 ans	M	1,4 Mb	M-D-L <i>et al.</i> 2010 [5]
	12 ans	M	1,4 Mb	M-D-L <i>et al.</i> 2010 [5]
	22 ans	M	1,4 Mb	M-D-L <i>et al.</i> 2010 [5]

M: masculin, F: féminin, m: mois, M-D-L : Moreno-De-Luca . Dans les articles cités en bleu, les auteurs ont identifié dans un premier temps une délétion du gène avant de mettre en évidence une microdélétion 17q12. Dans les articles cités en noir, les auteurs ont directement identifié une microdélétion 17q12.

Cette discordance entre le faible nombre de publications évoquant des troubles neuropsychologiques chez les patients porteurs d'une délétion du gène (présentation des patients essentiellement néphrologique et / ou endocrinologique), par rapport aux patients porteurs d'une microdélétion 17q12 (présentation des patients essentiellement neurologique), pourrait être expliquée par :

- une sous évaluation des problèmes neurologiques chez les patients présentant une « délétion du gène »...
- par l'existence d'un sous-groupe de patients avec des troubles du développement neuropsychologique parmi l'ensemble des patients porteurs d'une microdélétion 17q12...

Suite à ces deux constatations, nous nous sommes proposés de tester, sur le plan national, l'ensemble des patients suivis en néphrologie pédiatrique et porteurs d'une anomalie du gène *HNF1B* afin de répondre aux deux objectifs présentés ci-dessous :

Objectif 1 : déterminer si tous les patients, connus pour avoir une délétion du gène, sont porteurs d'une microdélétion 17q12.

Objectif 2 : décrire le phénotype neuropsychologique des patients avec une microdélétion 17q12, en le comparant à celui des enfants présentant une anomalie limitée au gène *HNF1β*.

II- MATERIEL ET METHODE

A. Population

Cette étude ne s'est adressée qu'aux patients de moins de 18 ans suivis en néphrologie pour des anomalies rénales secondaires à une atteinte du gène *HNFI1B*. Les patients étaient déjà inclus ou en cours d'inclusion dans la cohorte nationale de suivi prospectif des enfants présentant une anomalie de ce gène. Au dernier recensement, réalisé en août 2011, cette cohorte, coordonnée par le Pr Guignon à Limoges, comprenait 101 patients.

Il a été décidé d'inclure le maximum d'enfants sur une période de 1 an. Les possibilités de recrutement étaient dépendantes de la participation des néphrologues pédiatres contactés.

Les néphropédiatres de sept centres de pédiatrie français ont participé à l'étude : Centre Hospitalier Universitaire de Limoges, Bordeaux, Paris (Robert Debré), Lille, Clermont-Ferrand, Montpellier et Brest.

Le consentement des parents a été obtenu pour chaque patient inclus. Cette étude a été validée par le comité d'éthique de l'hôpital Dupuytren dans le cadre de la réglementation sur les études observationnelles.

L'étude comprenait deux volets :

- **Une analyse cytogénétique** par FISH (Fluorescent In Situ Hybridation) à partir d'un frottis jugal, pour les patients porteur d'une délétion du gène afin de déterminer la taille de la délétion: limitée au gène (maladie monogénique) ou impliquant des gènes adjacents (syndrome microdélétionnel).
- **Une analyse clinique** à partir d'un questionnaire s'intéressant au développement psychomoteur et comportemental de l'ensemble des enfants (quel que soit le type d'anomalie génétique).

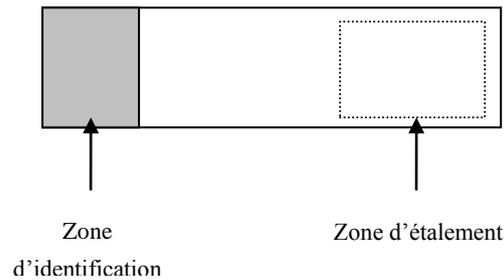
Des photographies du visage ont permis la recherche de signes physiques mineurs associés.

Enfin un sous groupe de patients a bénéficié d'une évaluation neuropsychologique à l'aide de tests standardisés.

B. Objectif 1 : l'analyse cytogénétique

1. La réalisation du frottis jugal

Après avoir obtenu le consentement signé des parents, le frottis jugal a été réalisé à l'aide d'une spatule en bois en raclant la face interne de la joue, avec étalement des cellules sur la moitié de la lame (zone d'étalement), opposée à la zone dépolie (zone d'identification du patient).



Le prélèvement a été fixé par pulvérisation de laque (fixation forte). Au total 6 lames de frottis jugaux ont été réalisées par patient. Les lames ont été envoyées dans des boîtes à compartiment en plastique assurant leur préservation lors de l'envoi au laboratoire de Cytogénétique de Limoges.

2. La technique FISH

a) Le principe

La FISH (Fluorescence In Situ Hybridation) permet de visualiser l'ADN cible par marquage fluorescent grâce à une hybridation in situ de l'ADN à l'aide de sondes d'ADN fluorescentes.

La technique comprend 2 étapes essentielles : tout d'abord une dénaturation qui permet d'obtenir de l'ADN simple brin, puis une hybridation qui permet le réappariement des séquences complémentaires de l'ADN cible et de la sonde.

b) Les sondes utilisées

La taille de la délétion a été étudiée à l'aide de sondes préparées au laboratoire à partir de BACs (Bacterial Artificial Chromosomes). Il s'agit de sondes locus spécifiques réparties à différents niveaux sur le bras long du chromosome 17 dans la région q12. Ces sondes ont été obtenues à partir de Chromosomes Artificiels de Bactéries (BACs) fournis par BACPAC Resource Center, Children's Hospital Oakland Research Institute (Oakland, California, USA; <http://bacpac.chori.org/>). Les BACs sont des vecteurs transférables dans les bactéries contenant un insert d'ADN spécifique.

Tableau 10 - Caractéristiques des BACs utilisés dans notre étude

Clones	Carte UCSC (pb)
RP-11-104J23	34325936-34442621
RP-11-92H7	34442621-34508116
RP-11-428O23	34725849-34907365
RP-11-356K17	34907366-35005379
RP-333J10	35297415-35392295
RP-11-115K3	36076803-36248239
RP-11-1407O15	36248240-36372616
RP-11-1331M22	36372617-36510265

UCSC : Séquences de référence humaine faite à partir de NCBI

c) Le marquage des BACs

Les bactéries (*Echerichia coli*) contenant les BACs ont été cultivées afin d'obtenir un grand nombre de sondes.

L'ADN extrait a été marqué par technique de Nick-translation, permettant d'obtenir des sondes fluorescentes par incorporation d'un nucléotide d'UTP couplé à un fluorochrome. La DNase provoque une brèche dans la structure d'un des brins de l'ADN et l'ADN polymérase I synthétise un nouveau brin d'ADN à partir de l'extrémité 3' et incorpore les nucléotides marqués. En même temps l'exonucléase de l'ADN polymérase I hydrolyse les nucléotides du côté 5'.

Les BACs RP-11-104J23, RP-11-356K17, RP-11-115K3 et RP-11-1331M22 ont été marqués par de la cyanine 3 émettant un signal rouge.

Les BACs RP-11-92H7, RP-11-428O23, RP-11-333J10 et RP-11-1407O15 ont été marqués par de la fluorescéine émettant un signal vert.

Ces deux marquages ont été réalisés pour effectuer un « bornage » de la microdélétion en utilisant deux sondes de couleur différente (rouge/vert) (**figure 10**).

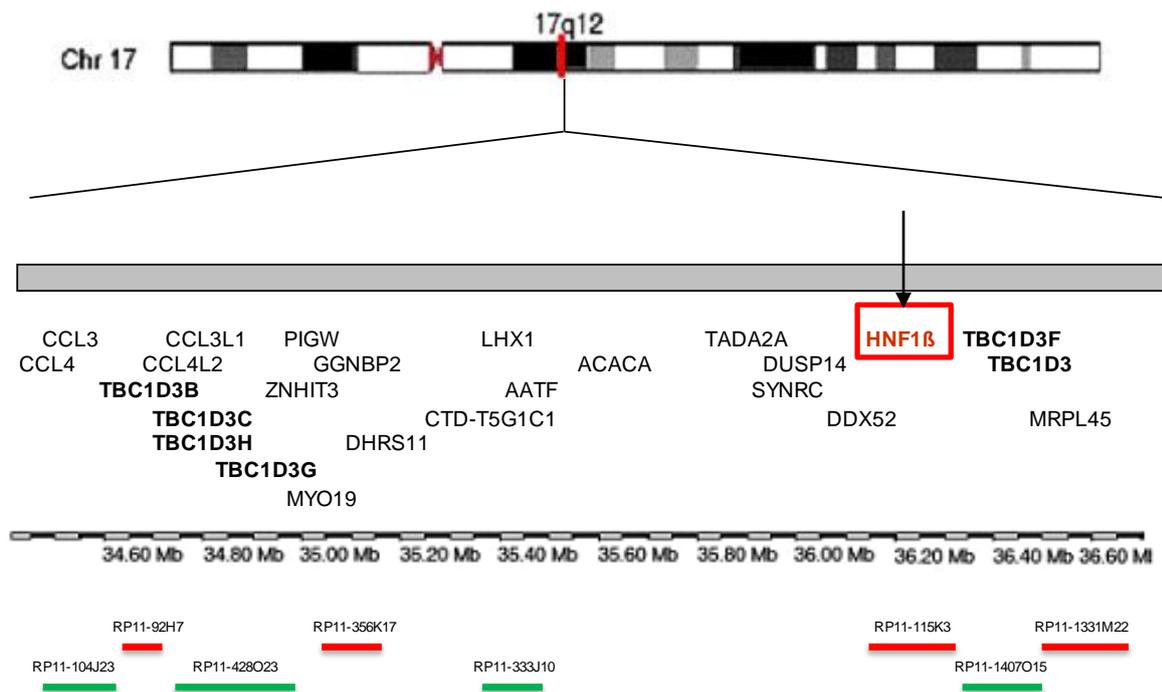


Figure 10 - Localisation des différents BACs dans la région 17q12
(Ensembl Homo Sapiens version 62.37g (GRCh37) chromosome 17).

d) L'hybridation *in situ* par sondes fluorescentes (FISH)

Fixation et pré-traitement des lames

A l'arrivée dans le service les lames recouvertes de laque ont été fixées pendant 30 min dans une solution Méthanol/Acide acétique. Les cellules ont bénéficié ensuite d'un pré-traitement afin d'optimiser l'accès de la sonde aux noyaux. Pendant 20 min les lames ont été plongées dans une solution à 37°C de HCL 0,01M contenant de la pepsine à 0,001% , puis une post fixation a été réalisée en présence de MgCl₂ et de formaldéhyde à 1% pendant 5 min à température ambiante. Enfin nous avons deshydraté les lames à l'aide de 3 bains successifs d'éthanol de concentration croissante (75%, 85% puis 100%).

La dénaturation de l'ADN

2µl d'une sonde marquée en rouge et 2µl de la sonde correspondant au BACs adjacent marqué en vert ont été déposés sur une lame au niveau de l'ADN. La lame recouverte d'une lamelle a été placée sur une plaque chauffante à 73° pendant 4min30 ce qui a permis la codénaturation de l'ADN (sonde et ADN cible).

L'hybridation de l'ADN

L'hybridation entre la sonde et l'ADN cible a eu lieu à 37°C dans une chambre humide pendant une nuit.

Les lavages post hybridation

Les lames ont été lavées dans deux solutions de rinçage afin d'éliminer les marquages non spécifiques dans deux solutions de SSC (à 73° puis à température ambiante).

La contre-coloration

Une fois la lame sèche, une contre-coloration s'est effectuée à l'aide du DAPI II (Vysis) qui contient un agent intercallant de l'ADN et un agent qui évite l'extinction rapide de la fluorescence.

La lecture

Enfin chaque lame a été lue au microscope à épifluorescence (ZEISS Axioplan 2 imaging, logiciel cytovision). L'analyse a porté sur au moins 60 noyaux. Lorsque le nombre de noyaux interprété était inférieur à 60, les résultats étaient donnés sous réserve.

C. Objectif 2 : l'analyse clinique

1. Présentation du questionnaire

Le questionnaire d'évaluation du développement neurologique et psychomoteur est disponible en annexe. Volontairement limité à une feuille recto-verso, il se veut réalisable en pratique courante, c'est-à-dire au cours d'une consultation de suivi pédiatrique. Les items étudiés concernent les données anténatales, familiales, le développement psychomoteur et staturo-pondéral, l'examen clinique, l'intégration sociale, la scolarité et la prise en charge médico-éducative (**annexe 3**).

L'âge normal des acquisitions psychomotrices et du contrôle sphinctérien sont définis ci-dessous :

a) Age normal des acquisitions [65] :

Tableau 11 - Le développement psychomoteur normal du nourrisson et de l'enfant

Performances motrices	Tenue de tête	3 mois
	Station assise sans appui	8-9 mois
	Marche	12-18 mois
Préhension	pouce-index	9-12 mois
Langage	vocalise	naissance à 3 mois
	premiers mots	12 mois
	phrases	3 ans
Sociabilité	sourire réponse	1-2 mois
	attention conjointe	6 mois
	pointages	15 mois
	joue avec les autres	3 ans
Graphisme	rond	3 ans
	carré	4 ans
	lettres bâton	4-5 ans
	lettres attachées	6 ans

b) Age d'acquisition du contrôle sphinctérien [65] :

- Vers 28 mois pour la propreté diurne
- Vers 3 ans pour la propreté nocturne

2. La réalisation des photographies

Après l'obtention du consentement signé des parents, des photographies du visage ont été réalisées avec un cliché de face et un de profil, en dégagant bien les oreilles, sans les lunettes et avec si possible une expression neutre du visage.

3. La présentation des tests neuropsychologiques

- **La WPPSI-III est une échelle d'intelligence de Wechsler pour la période préscolaire et primaire.** Ce test comporte deux formes distinctes selon l'âge des enfants : une pour les plus jeunes de 2 ans 6 mois à 4 ans et une autre de 4 ans à 7 ans 3 mois. La WPPSI-III permet de comprendre le fonctionnement intellectuel global des jeunes enfants. Trois dimensions sont évaluées : la dimension verbale, la dimension performance et la vitesse de traitement. A partir de l'évaluation des trois dimensions on peut calculer le QI Total de l'enfant.

• **La WISC-IV est une échelle d'intelligence de Wechsler pour les enfants** de 6 à 16 ans. En se basant sur quatre grandes composantes (compréhension verbale, raisonnement perceptif, mémoire de travail et vitesse de traitement), cette échelle évalue les différentes aptitudes intellectuelles essentielles aux processus d'apprentissage. A partir des quatre scores composites on peut calculer le QI Total de l'enfant.

Tableau 12 - Classification par niveau cognitif : DSM IV

Quotient intellectuel (QI)	Niveau cognitif
130 et plus	Très supérieur (précocité)
120 à 129	Supérieur
110 à 119	Normal fort
90 à 109	Moyen
88 à 89	Normal faible
70 à 79	Limite
50-55 à 69	Retard mental léger
35-40 à 50-55	Retard mental moyen
20-25 à 35-40	Retard mental grave
Moins de 20-25	Retard mental profond

• **L'échelle de l'évaluation de l'autisme infantile (CARS)** est une échelle incluant 15 items comportementaux pouvant s'appliquer à des enfants de tous âges incluant les enfants d'âge préscolaire. Elle a été réalisée pour identifier les enfants autistiques et pour les distinguer des enfants porteurs d'autres troubles du développement sans syndrome autistique associé. Elle permet également de distinguer les enfants dont les signes d'autisme sont de discret à moyen des enfants dont l'autisme est sévère. Elle remplace des jugements cliniques subjectifs par des évaluations objectives et quantifiables basées sur l'observation comportementale.

Chaque item est coté de 1 à 4. Le score global varie de la note la plus faible 15 lorsque le comportement de l'enfant se situe dans la normalité, à 60 lorsque le comportement de l'enfant est sévèrement anormal

Tableau 13 - Echelle CARS. Interprétation du score

Score total CARS	Catégorie de diagnostic	Degré d'autisme
15-29,5	Non autistique	
30-36,5	autistique	léger
37-60	autistique	sévère

- **Echelle Vineland**

Cette échelle est conçue pour évaluer le comportement adaptatif dans les domaines de la scolarisation, de la communication, de l'autonomie de la vie quotidienne et de la motricité. Il s'agit d'un entretien semi-structuré avec les parents. Les questions dépendent de l'âge de l'enfant.

Le total des notes est ensuite converti en âge de développement dans chaque domaine et sous-domaine.

D. Analyse statistique

Nous avons interprété les variables quantitatives en terme de médiane et les variables qualitatives en terme de pourcentage. Compte tenu du faible effectif, nous avons utilisé des tests statistiques non paramétriques pour comparer les médianes et un test de Fischer pour comparer les pourcentages, avec un seuil de significativité à 5%.

Une analyse statistique n'a pas pu être réalisée pour l'ensemble des données obtenues. En effet pour certains items, l'analyse statistique n'avait pas de sens compte tenu de la taille de notre population. Nous avons fait le choix d'analyser statistiquement les résultats obtenus pour les acquisitions psychomotrices, le quotient intellectuel et les signes dysmorphiques.

III- RESULTATS

A. Population

Cette étude préliminaire, s'est déroulée sur une période de 1 an de juillet 2010 à juillet 2011.

Sur les 29 patients inclus, 45% étaient des filles et 55% des garçons, avec un sexe ratio F/G de 0,8. Ils étaient âgés de 11 mois à 17 ans avec un âge médian de 6 ans 1 mois.

Tous les patients inclus bénéficiaient d'un suivi par un néphrologue pédiatre en raison d'une atteinte rénale diagnostiquée soit en anténatal, soit en post-natal.

Tous les patients étaient porteurs d'une anomalie du gène *HNFI1B* : 18 patients présentaient une délétion complète du gène, identifiée par QMPSF et 11 patients présentaient une mutation ponctuelle, identifiée par séquençage.

B. Résultats de l'analyse cytogénétique

L'analyse cytogénétique sur cellules interphasiques a concerné 17 patients connus pour avoir une délétion complète du gène identifiée initialement par QMPSF. Un patient n'a pas eu de frottis jugal, mais a bénéficié d'une analyse sur métaphases à partir d'une culture de lymphocytes.

1. Délétion de 1,3 Mb (12 patients + 4 sous réserve)

Des points de cassure identiques ont été retrouvés chez 12 patients sur 18, soit 66,6% (figure 12).

Pour ces 12 patients le point de cassure proximal est situé entre les BACs RP11-428O23 (en vert) et RP11-356K17 (en rouge).

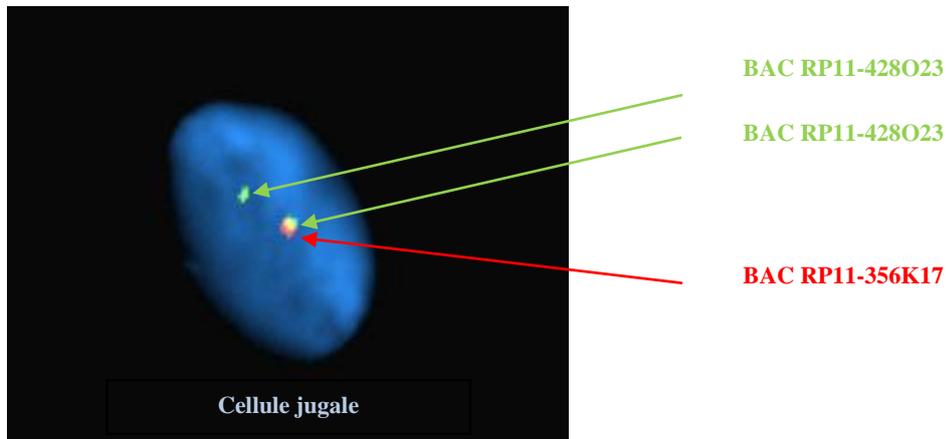


Figure 11 - Localisation du point de cassure proximal par technique FISH

Pour ces 12 patients le point de cassure distal est situé entre les BACs RP11-115K3 (en rouge) et RP11-1407O15 (en vert).

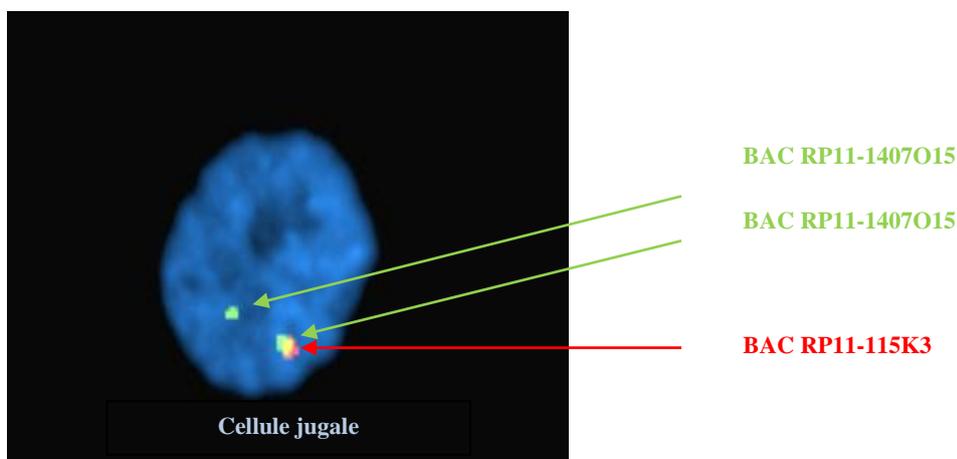


Figure 12 - Localisation du point de cassure distal par technique FISH

Des points de cassure identiques aux 12 cas cités précédemment ont été retrouvés pour les autres patients mais le nombre de cellule analysées pour déterminer le point de cassure distal, était inférieur à 60.

Un patient (déjà signalé) n'a pas eu de frottis jugal, l'analyse sur métaphases a retrouvé des points de cassures identiques, mais le résultat est donné sous réserve en raison d'un nombre de mitoses insuffisant.

2. Cas particuliers (2 patients)

a) Point de cassure proximal différent (1 patient) : délétion de 1,4 Mb

Le point de cassure proximal était situé dans le BAC RP11-428O23 (en vert) : la lecture a retrouvé 29 noyaux avec 2 spots verts et un spot rouge et 8 noyaux avec 1 spot vert et 1 spot rouge. Une cassure au sein du BAC marqué en vert explique cette hybridation aléatoire.

Le point de cassure proximal distal correspondait à celui retrouvé pour les 12 cas précédemment cités.

Ce résultat donné sous réserve en raison d'un nombre de noyaux interprétables inférieur à 60 sur l'ensemble des lames étudiées.

b) Points de cassure différents (1 patient) : délétion 1,7 Mb

Pour un patient, le point de cassure proximal était situé entre les BACs RP11-92H7 (en vert) et RP11-428K15 (en rouge).

Le point de cassure distal se trouvait dans le Bac RP11-1407O15 (en vert) : la lecture a retrouvé une hybridation aléatoire avec 46 noyaux avec 2 spots verts et un spot rouge et 28 noyaux avec 1 spot vert et 1 spot rouge.

3. Synthèse des résultats

Les 18 patients analysés présentaient une microdélétion d'environ 1,3 à 1,7 Mb. La microdélétion la plus fréquemment retrouvée était de 1,3Mb (16 patients sur 18 analysés). Pour deux patients la taille de la région impliquée était plus large : soit 1,4Mb pour un patient et 1,7Mb pour l'autre (**figure 13**).

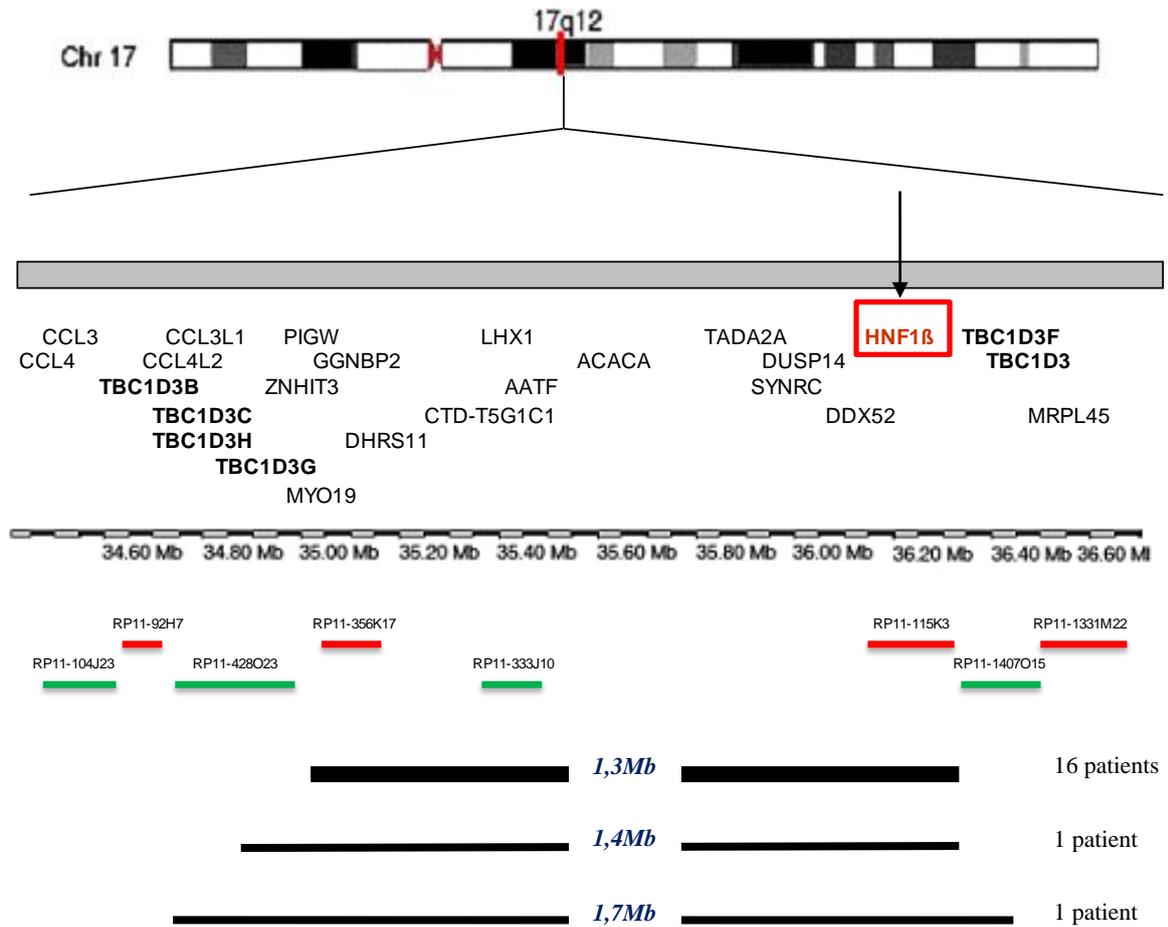


Figure 13 - Taille de la microdélétion en 17q12 (18 patients)

C. Résultats de l'évaluation clinique

1. Questionnaire

a) Les données anténatales

Aucun enfant ne présentait d'anomalie du système nerveux central visible sur les imageries (échographies fœtales ou IRM fœtale). Seul un patient a bénéficié d'une IRM fœtale dans le cadre d'un bilan malformatif suite à la découverte de reins hyperechogène à +2DS.

b) Les données néonatales

Aucun enfant n'a été hospitalisé à la naissance pour un problème neurologique.

Tous les patients porteurs d'une microdélétion 17q12 étaient nés à terme, 4 patients porteurs d'une mutation d'*HNF1B* étaient nés prématurés (entre 28SA et 36SA+5SA).

Le calcul de la médiane pour le terme et les mensurations néonatales des patients sont rapportés dans le tableau suivant.

Tableau 14 - Mensurations des patients à la naissance

Anomalie génétique	Nombre de patients	Terme		Poids		Taille		PC	
		médiane	n=	médiane	n=	médiane	n=	médiane	n=
Microdélétion 17q12	18	40SA	17	3110g	18	50,5cm	17	34cm	13
Mutation HNF1 β	11	38SA	11	2760g	11	48,5cm	8	34cm	10

n= nombre de patient avec données disponibles

Des anomalies à l'échographie trans-fontanelle ont seulement été rapportées pour un patient muté, il s'agissait d'une hémorragie intraventriculaire bilatérale liée à la prématurité (enfant né à 28SA+4).

Aucun patient n'a présenté de convulsions néonatales.

c) Le développement psychomoteur et l'acquisition de la propreté

A partir des données du questionnaire, nous avons sélectionné les items les plus pertinents pour évaluer le développement psychomoteur. Notre choix a été influencé par le nombre important de données manquantes pour certains items comme la tenue de tête, la préhension

pouce-index, l'attention conjointe ou les pointages. Les données sont répertoriées dans les tableaux suivant en fonction du type d'anomalie génétique.

Tableau 15 - Développement psychomoteur et l'acquisition de la propreté

Patients avec une microdélétion 17q12 :

Sexe	Age	Tenue assise	Marche autonome	Premier mot	Phrase	Age propreté diurne	Age propreté nocturne
F	18	7	14	ND	NA	NA	NA
F	20	9	12	ND	NA	NA	NA
F	28	10	18	ND	24	NA	NA
M	30	8	17	17	ND	NA	NA
M	33	ND	12	12	ND	NA	NA
F	38	ND	17	ND	24	18	20
F	41	7	16	ND	30	19	36
F	50	7	15	17	24	36	NA
F	60	6	12	9	24	12	60
M	72	9	20	NA	NA	NA	NA
M	73	9	14	12	ND	15	48
M	75	9	16	ND	ND	36	NA
F	79	9	15	ND	ND	36	36
M	95	9	15	ND	ND	30	60
F	101	9	13	12	ND	24	36
F	101	9	21	ND	32	36	96
M	112	6	12	12	24	24	84
M	204	10	15	ND	ND	ND	ND
	Médiane	9	15	12	24	24	48

M:masculin; F:féminin; ND:donnée non disponible; NA:donnée non adaptée; l'âge des acquisition est noté en mois ; Age: âge de l'enfant lors de l'évaluation.

Patients avec une mutation d'HNF1B :

Sexe	Age	Tenue assise	Marche autonome	Premier mot	Phrase	Age propreté diurne	Age propreté nocturne
M	11	8	NA	NA	NA	NA	NA
M	30	9	17	12	24	NA	NA
F	43	9	13	ND	36	36	NA
M	71	9	14	ND	ND	42	48
M	94	9	17	ND	ND	24	54
F	106	8	12	10	30	30	42
M	112	8	11	12	ND	30	30
F	119	9	14	14	ND	30	30
M	146	9	12	18	ND	36	84
M	146	9	14	ND	ND	ND	ND
M	166	9	13	12	36	36	102
	Médiane	9	13,5	12	33	33	48

M:masculin; F:féminin; ND:donnée non disponible; NA:donnée non adaptée; l'âge des acquisition est noté en mois ; Age: âge de l'enfant lors de l'évaluation.

L'analyse statistique des données obtenues n'a pas montré de différence significative entre les deux groupes pour l'acquisition de la marche ($p=0,1$), du langage ($p=0,15$ pour l'item « phrases ») et de la propreté ($p=0,15$ pour l'item « propreté diurne »).

Le calcul de la médiane était identique dans les deux groupes pour l'âge d'acquisition de la tenue assise, des premiers mots et de la propreté nocturne.

d) Les troubles sensoriels

Les troubles de la vision et de l'audition ont été répertoriés en fonction de l'anomalie génétique dans le **tableau 16**.

Tableau 16 - Troubles sensoriels

Troubles sensoriels	Nombre de patients (n)	
	Microdélétion 17q12	Mutation HNF1 β
Surdité de perception	0	0
Surdité de transmission	0	1
Myopie	0	2
Hypermétropie + astigmatisme	1	1
Hypermétropie	1	0
Presbytie	0	1
Strabisme	0	1
Anomalie ophtalmologique non précisée	0	1
Total=	2	7

Des troubles sensoriels ont été notés chez 2 patients sur 18 (soit 11%) dans le groupe avec syndrome microdélétionnel 17q12 contre 7 sur 11 (soit 63,5%) dans le groupe avec mutation *HNF1B*.

e) Le sommeil et l'alimentation

L'évaluation a également porté sur le sommeil et l'alimentation, les données sont mentionnées dans le **tableau 17**.

Tableau 17 - Troubles du sommeil et de l'alimentation

Troubles du sommeil et de l'alimentation	Nombre de patients	
	Microdélétion 17q12	Mutation HNF1 β
Réveils nocturnes	4	2
Alimentation sélective	1	2
Antécédent d'hyperphagie	0	1
Difficultés d'alimentation d'origine iatrogène	2	0

La notion de réveils nocturnes a été rapportée pour 4 patients sur 18 (soit 22%) dans le groupe avec syndrome microdélétionnel 17q12 contre 2 patients sur 11 (soit 18%) dans le groupe avec mutation d'*HNF1B*.

Six patients présentaient des troubles de l'alimentation: trois avaient une mutation et 3 une microdélétion 17q12.

Deux enfants porteurs d'une microdélétion 17q12 ont présenté des difficultés d'alimentation au décours d'une intervention chirurgicale :

- suite à une cure de hernie diaphragmatique congénitale pour un patient.
- et suite à une chirurgie digestive pour maladie de Hirschsprung pour le second patient (mutation du gène *RET* identifiée). Lors de l'inclusion, ce patient présentait une cirrhose hépatique secondaire à l'alimentation parentérale instaurée en post chirurgical.

f) Le développement staturo-pondéral

Le poids, la taille et le PC lors de l'inclusion ont été interprétés en Déviation Standard (DS).

Patients avec une microdélétion 17q12 :

- 15 sur 18 avaient des mensurations entre -2 et +2DS (soit 83%)
- Cas particuliers :
 - 1 patient avait une macrocéphalie avec PC à +4DS (pour un poids à -0,6DS et une taille à -0,8DS)
 - 1 patient avait un léger retard staturo-pondéral : poids à -1DS, taille à -2,5DS et PC à +0,7DS (IMC=18,4)
 - 1 patient présentait une légère avance staturo-pondérale : poids à +2,5DS pour une taille à +1,5 et un PC à +0,5DS (IMC=17,5)

Patients avec une mutation d'*HNF1B* :

- 7 sur 11 avaient des mensurations entre -2 et +2 (soit 63%)
- Cas particuliers :
 - 1 patient avait un retard staturo-pondéral : poids à -2DS, taille à -2,4DS et PC à -2,7DS (il s'agissait d'un ancien prématuré né à 28SA+5). (IMC=16,1)
 - 3 patients présentaient une avance staturo-pondérale :
 - poids : +4,8DS, taille : +2,8DS, PC : +2,5DS IMC=21,9

(soit obésité degré 1 sur la courbe de corpulence)

- poids : +2,3DS, taille : +2,6DS, PC : +0,4DS IMC=17,8
- poids : +1,7DS, taille : +3DS, PC : +2DS IMC=14,6

Deux patients présentaient une macrocéphalie :

- ✓ 1 dans le groupe microdélétion : PC à +4DS
- ✓ 1 dans le groupe mutation : PC à +2,5DS.

g) L'examen neurologique

L'examen neurologique standard (associant l'examen de la marche, du tonus, des réflexes ostéo-tendineux, de la motricité, des pupilles, de l'oculomotricité et la recherche d'un syndrome cérébelleux et pyramidal) était normal chez l'ensemble des patients quel que soit le type d'anomalie génétique.

Aucun patient n'était épileptique, un seul enfant présentait des antécédents de crises convulsives hyperthermiques.

Deux patients bénéficiaient d'un suivi neurologique, un pour autisme et un pour retard d'acquisition prédominant sur le langage.

h) Imageries cérébrales et EEG

Patients avec une microdélétion 17q12 :

- Trois patients ont eu une IRM cérébrale pour respectivement : macrocéphalie, autisme et retard d'acquisition. Aucune anomalie morphologique n'a été mise en évidence.
- Deux patients ont eu un électroencéphalogramme (EEG) : un pour exploration de troubles autistiques et un pour retard de langage. Les tracés n'ont pas retrouvé d'élément pathologique.

Patients avec une mutation d'*HNF1B* :

- Un patient a eu un EEG dans le cadre d'un bilan de malaise. Le tracé était normal.

i) La scolarité et la prise en charge médico-éducative

Le pourcentage global d'enfant en difficulté scolaire selon les parents (donnée subjective) était similaire dans les deux groupes : 54% pour le groupe microdélétion et 44,5% pour le groupe mutation. Cependant en se limitant aux données objectives les difficultés paraissaient plus importantes dans le groupe d'enfant présentant une microdélétion 17q12 (pour mémoire, aucun patient n'était né prématuré dans ce groupe).

Patients porteurs d'une microdélétion 17q12 :

- Ils nécessitaient une prise en charge plus globale par rapport aux patients présentant une mutation du gène : orthophonie (3 patients versus 0), psychomotricité (3 patients versus 1) et psychothérapie (2 patients versus 0).
- Deux patients bénéficiaient d'une prise en charge médico-éducative :
 - 1 patient dans un CAMSP (Centre d'Action Médico Sociale Précoce) avec la réalisation de séances d'orthophonie et de psychomotricité. Cet enfant redoublait sa Grande section de maternelle et devait obtenir prochainement une AVS (Auxiliaire de Vie Scolaire).
 - 1 patient dans un CATTP (Centre d'Accueil Thérapeutique à Temps Partiel) et un IME (Institut Médico-Educatif) avec des séances de psychomotricité et de psychothérapie.

Patients porteurs d'une mutation du gène *HNF1B* :

Parmi les 5 patients porteurs d'une mutation et présentant des difficultés scolaires (selon les parents), seulement 2 bénéficiaient de séances de soutien scolaire. Un seul de ces deux patients avait eu plus de difficultés mais poursuivait une scolarité dite classique. Lors de l'inclusion, il était scolarisé en 5ème général avec seulement des séances de soutien en français. Son parcours était marqué par une prise en charge dans un CMPP (Centre Médico-Psycho-Pédagogique) pour la réalisation de séances de psychomotricité, 1 heure par semaine en CM1 et CM2 et par un redoublement de la 6ème.

Cependant l'analyse statistique (limité aux données objectives) n'a pas retrouvée de différence significative entre les deux groupes ($p=1$).

Par ailleurs, parmi les enfants scolarisés, la scolarité était dite normale (selon les parents) pour 46% des patients du groupe microdélétion et pour 44,5% des patients du groupe mutation.

Tableau 18 - Scolarité et prise en charge médico-éducative

	Microdélétion 17q12 n=18	Mutation HNF1 β n=11	
Non scolarisé(<3ans)	5	2	} Données subjectives (Selon les parents)
Scolarité normale	6	4	
Difficultés scolaires	7	5	
AVS	1	0	} Données objectives
Soutien scolaire	1	2	
Classe redoublée	1	1	
PEC Médico-éducative	2	1	
Orthophonie	3	0	
Psychomotricité	3	1	
Psychothérapie	2	0	

j) Comportement

Des troubles du comportement ont été mentionnés par les parents chez 4 enfants avec une microdélétion et chez 6 enfants avec une mutation.

Patients avec microdélétion 17q12 : 5 patients sur 18 (soit 28%)

Sexe	Trouble du comportement
F	Timide, introvertie
M	Enfant autiste
G	Agité, turbulent
F	Craintive, anxieuse, réservée
F	Difficultés de concentration

Patients avec une mutation *HNF1B* : 6 patients sur 11 (soit 54,5%)

Sexe	Trouble du comportement
G	Agité, turbulent
G	Difficultés de concentration
F	Timide
G	Impulsif, difficultés de concentration
G	Timide, anxieux
G	Difficultés de concentration

2. Signes dysmorphiques

Les photographies ont été analysées par deux généticiens cliniciens spécialisés en dysmorphologie (le Pr Didier Lacombe et le Dr Marie-Ange Delrue).

Des photographies ont été obtenues pour 28 des 29 patients inclus, nous n'avons pas reçu de photographies pour 1 patient porteur d'une délétion.

• Patient avec une microdélétion 17q12 :

Les signes physiques mineurs le plus retrouvés étaient : le front haut (76,5%), les joues pleines (76,5%) et les yeux cernés (59%) (**Figure 14 et 15**).

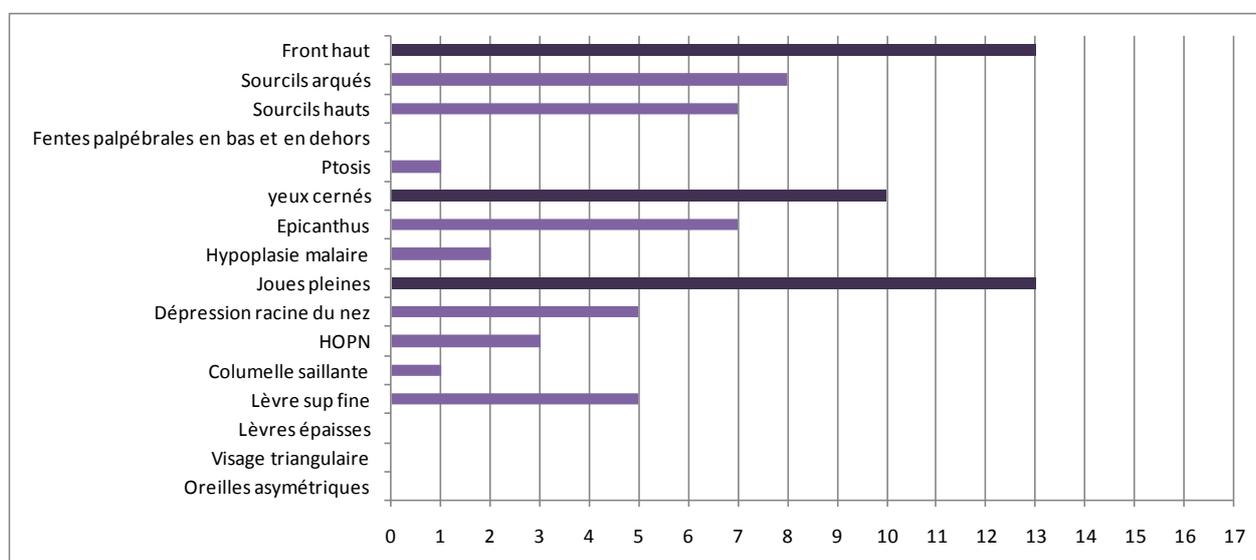


Figure 14 - Signes dysmorphiques associés au syndrome microdélétionnel 17q12



Figure 15 - Photographies de face des patients porteurs d'une microdélétion 17q12

- **Patient avec une mutation d'*HNF1B* :**

Les signes physiques mineurs étaient plus discrets dans ce groupe : une hypertrophie des os propres du nez (HOPN) a été notée chez 63,5% des patients, des sourcils arqués chez 45% et des sourcils hauts chez 36% (**figure 16 et 17**).

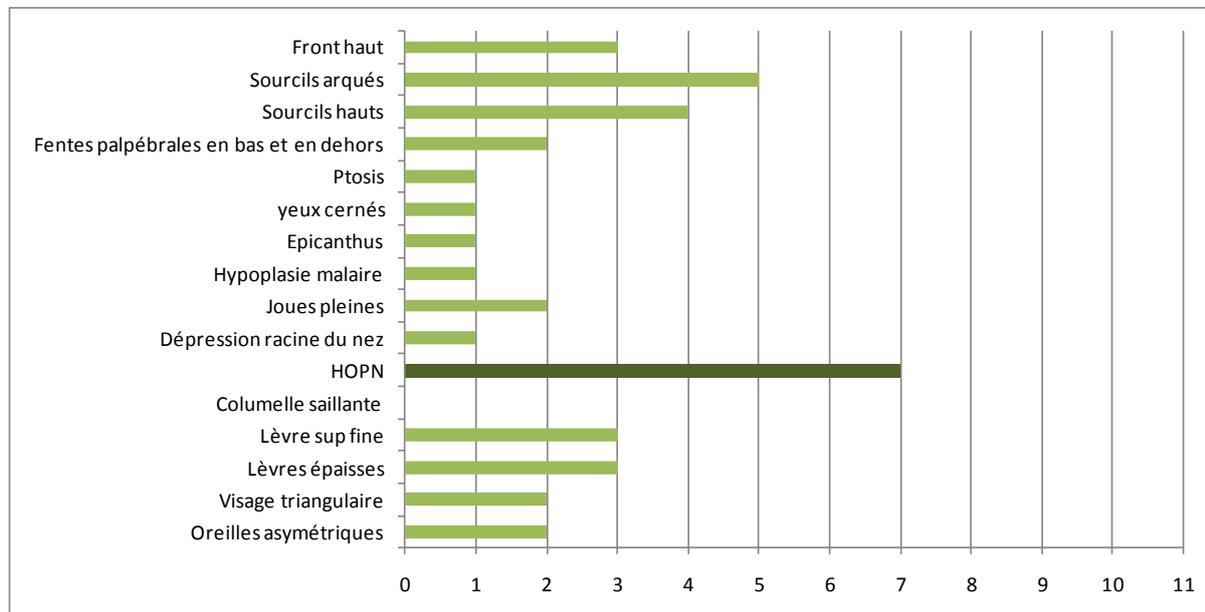


Figure 16 - Signes dysmorphiques associés aux mutations d'*HNF1B*



Figure 17 - Photographies de face des patients porteurs d'une mutation d'*HNF1B*

➤ **Analyse statistique**

Une différence statistiquement significative a été retrouvée pour certains critères:

-le front haut ($p=0,026$), les yeux cernés ($p=0,019$) et les joues pleines ($p=0,0078$) pour le groupe microdélétion.

-l'hypertrophie des os propres du nez ($p=0,016$) et les lèvres épaisses ($p=0,045$) pour le groupe mutation.

3. Evaluation neuropsychologique

Un sous groupe de 11 patients, comprenant 5 patients mutés et 6 patients délétés, a bénéficié d'une évaluation neuropsychologique à l'aide d'échelles standardisées. L'évaluation neuropsychologique n'a été réalisée que dans 2 centres en fonction de la disponibilité des familles.

a) WPPSI-III et WISC-IV

• Interprétation des quotients intellectuels (QI)

Aucun patient ne présentait de retard mental. L'analyse du quotient intellectuel des 11 patients retrouvait une répartition comparable à celle de la population générale. Les valeurs de QI se répartissaient entre 72 et 125. L'analyse de la répartition des valeurs de QI en fonction du type d'anomalie génétique, a permis de constater une tendance particulière : on notait un décalage des valeurs de QI vers la gauche de la moyenne pour les patients porteurs d'un syndrome microdélétionnel 17q12 (avec 2 valeurs de QI limite, entre 70 et 79) et inversement un décalage vers la droite pour les patients porteurs d'une mutation (avec 2 valeurs de QI supérieur, entre 120 et 129). Cette différence n'est cependant pas significative entre les deux groupes ($p=0,06$).

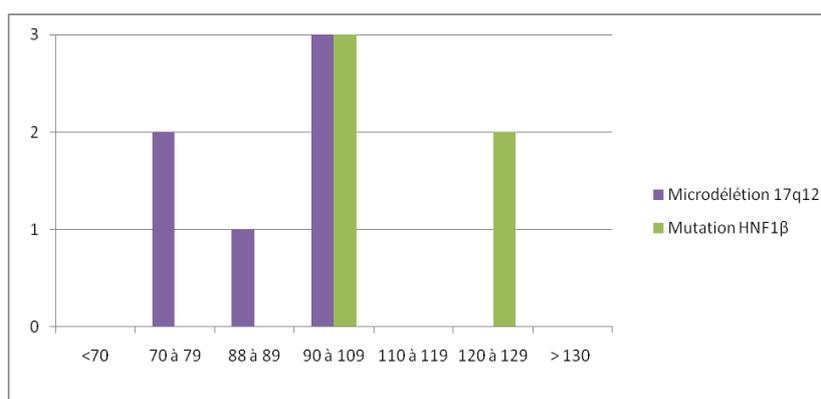


Figure 18 - Quotient intellectuel en fonction du type d'anomalie génétique

<70= retard mental ; 70 à 79= limite ; 80 à 89= normal faible ; 90 à 109= moyen ; 110 à 119= normal fort ; 120 à 129= supérieur ; >130= très supérieur (précocité)

• Interprétation du QI verbal (V) et du QI performance (P)

Une différence de 20 points entre ces deux dimensions était considérée comme pathologique. Une dissociation a été constatée pour deux patients : un avec une microdélétion 17q12 et un avec une mutation *HNF1B*.

Patients avec une microdélétion 17q12 :

Tableau 19 – QIT (total), QIV (verbal), QIP (performance) et microdélétion 17q12

Sexe	Age	QIT	V	P
F	35	109	109	106
M	37	72	81	69
→ F	45	79	93	69
F	62	101	107	92
F	78	88	95	80
F	100	94	94	94

Pour le patient, désigné par la flèche, l'évaluation a retrouvé des compétences satisfaisantes pour la dimension verbale, en revanche les résultats étaient très hétérogènes pour la dimension performance. L'enfant a totalement échoué pour un subtest ce qui à l'origine d'une chute globale de la note pour l'évaluation des performances. Des difficultés dans les activités mobilisant des capacités plus abstraites, plus conceptuelles ont été constatées. L'hétérogénéité des résultats a été essentiellement interprétée par des difficultés comportementales et notamment une insécurité psychique importante.

Patients avec une mutation d'*HNF1B* :

Tableau 20 – QIT (total), QIV (verbal), QIP (performance) et mutation d'*HNF1B*

Sexe	Age	QIT	V	P
F	43	102	106	97
M	71	125	123	117
M	94	123	131	111
→ M	147	93	101	88
M	147	101	114	90

Le patient, désigné par la flèche, présentait un niveau intellectuel dans la moyenne avec des capacités plus marquées dans le domaine de la compréhension verbale. Les résultats pour le raisonnement perceptif étaient plus hétérogènes. Les principales difficultés étaient notées au niveau du raisonnement mental lors de l'évaluation des capacités visuo-spatiale. Un comportement inhibé avec un manque de confiance en soi et une mauvaise estime de soi a été rapporté pour cet enfant qui venait également de subir un événement de vie difficile avec le décès récent de son père.

b) CARS

Une échelle d'évaluation des troubles autistiques a été réalisée chez les 8 patients du centre de Bordeaux. Aucun patient testé n'a été diagnostiqué autiste, le score total était entre 15 et 23.

c) Echelle Vineland

Par l'évaluation de différents domaines (communication, autonomie, socialisation et motricité) cette échelle permet de calculer un âge de développement global (VADG).

L'âge réel a été comparé à l'âge de développement global pour l'ensemble des patients en fonction du génotype (**Figure 19 et 20**).

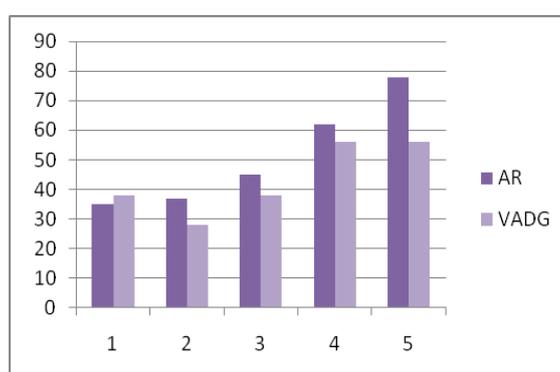


Figure 19 - VADG et microdélétion 17q12

AR : âge réel ; VADG : âge de développement global

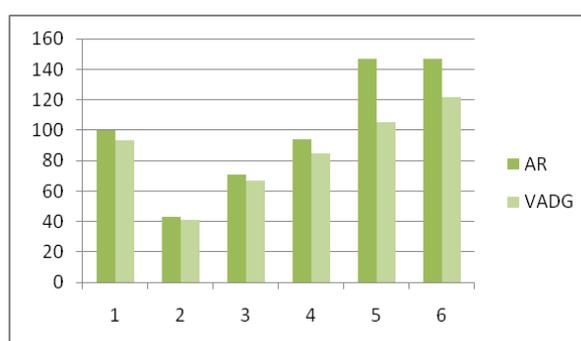


Figure 20 - VADG et mutation d'*HNF1B*

AR : âge réel ; VADG : âge de développement global

Des résultats similaires ont été constatés dans les deux groupes (syndrome microdélétionnel et maladie monogénique).

IV- DISCUSSION

A. La délétion complète du gène *HNF1B* correspond systématiquement à une microdélétion 17q12

Nous avons démontré pour les 18 patients porteurs d'une délétion complète du gène *HNF1B* que la région délétée ne se limitait pas au gène mais correspondait à une microdélétion en 17q12. En cas de microdélétion la taille du segment chromosomique, couvrant plusieurs gènes (pouvant chacun contribuer indépendamment au phénotype) n'est pas visible à la résolution du caryotype standard ou même à haute résolution (2-5 Mb), mais nécessite des techniques particulières comme l'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH). Cette technique est considérée comme une méthode de référence pour le diagnostic des syndromes microdélétionnels [66].

Nous avons utilisé la FISH sur des noyaux en interphase à partir d'un simple frottis buccal. Ce prélèvement non invasif est intéressant en pédiatrie chez les enfants présentant des troubles du comportement et notamment chez les enfants autistes ; il s'agit d'une alternative simple et indolore au prélèvement sanguin.

Dans notre étude, la taille de la délétion varie de 1,3 à 1,7 Mb. Cette variabilité dépend de la localisation des points de cassure au sein des séquences répétées (gènes *TBC1D*) situé de part et d'autre du remaniement chromosomique (figure 10). Il est donc difficile de borner avec précision cette microdélétion, mais nous pouvons au moins déterminer une taille minimum à 1,3 Mb.

Nos résultats sont concordants avec les données de la littérature, quel que soit le mode de découverte de cette microdélétion: secondairement après l'identification d'une délétion du gène *HNF1B* par QMPSF [4, 7, 30] (tableau 6) ou directement par CGH array [5, 6, 48] (tableau 7).

Suite à cette analyse cytogénétique nous pouvons redéfinir notre population de la façon suivante:

- patients porteurs d'une microdélétion 17q12 —————> n = 18
- patient porteur d'une délétion limité au gène *HNF1B* ———> n = 0
- patients porteurs d'une mutation du gène *HNF1B* —————> n = 11

B. Des difficultés d'acquisition apparemment plus sévères chez les patients présentant une microdélétion 17q12.

Un syndrome microdélétionnel est classiquement associé à des signes neurologiques et à un profil comportemental caractéristique qui est un signe clinique au même titre que les anomalies malformatives ou les signes dysmorphiques. En ce qui concerne la microdélétion 17q12, des publications récentes associent à ce remaniement génomique un risque accru d'apparition de troubles autistiques [3, 5]. Des difficultés d'acquisition de sévérité variable sont de plus en plus souvent associées à ce remaniement génomique [6, 7, 45].

Nous avons recherché dans notre série d'éventuelles caractéristiques cognitives et comportementales, en comparant les patients porteurs d'un syndrome microdélétionnel 17q12 par rapport aux patients porteurs d'une maladie monogénique par mutation du gène *HNF1B*.

Nous n'avons pas mis en évidence de différence significative entre les deux groupes pour les acquisitions psychomotrices qui étaient normales pour l'ensemble des patients.

Concernant l'âge de la propreté nocturne, l'âge médian d'acquisition se situait, pour les deux groupes, à la limite supérieure admise (tableau 15) ceci pourrait être expliqué plus par un défaut de concentration des urines d'origine rénale, que par un dysfonctionnement de la commande cérébrale d'origine neurologique.

L'étude des troubles du sommeil et de l'alimentation n'a pas mis en évidence de particularités.

Sachant qu'*HNF1B* n'est pas connu pour provoquer des troubles oculaires ou auditifs, il n'était pas relevant de discuter les résultats obtenus pour les troubles sensoriels. L'absence de population témoin rend également difficile l'interprétation de ces résultats.

La plupart des patients présentaient un développement staturo-pondéral normal avec des mensurations entre -2DS et +2DS. Les résultats obtenus pour les valeurs du périmètre crânien seront discutées ultérieurement.

L'examen clinique neurologique n'a pas retrouvé d'anomalie quel que soit le type d'anomalie génétique.

Selon les parents les difficultés scolaires représentaient plus de 50% des patients scolarisés dans les deux groupes. Ce pourcentage est supérieur à celui admis pour la population générale : d'après le Ministère de la Santé près de 20% des enfants scolarisés présentent des difficultés d'apprentissages [67]. Cette constatation est cependant à nuancer, en effet cette notion était une donnée subjective dépendante du degré d'exigence des parents quand à la réussite scolaire de leur enfant. Il aurait été intéressant d'obtenir l'avis des enseignants pour

cet item. Même si le pourcentage global d'enfant présentant des difficultés scolaires apparaissait similaire dans les deux groupes, les difficultés rencontrées par les patients semblaient plus importantes dans le groupe microdélétion. Les enfants en difficulté scolaire et porteurs d'un syndrome microdélétionnel nécessitaient une prise en charge plus globale avec des séances de psychomotricité, d'orthophonie et de psychothérapie ainsi que l'orientation vers des structures médico-éducatives.

De plus la réalisation de tests neuropsychologiques (WPPSI-III et WISC-IV), chez un sous groupe de patients, a retrouvé un quotient intellectuel plus faible dans le groupe microdélétion que dans le groupe mutation ($p=0,06$) : cette tendance devra être confirmée sur un plus large effectif.

En raison du faible effectif de notre série, l'évaluation neuropsychologique menée chez un sous groupe de patient ne nous permet pas de définir un profil neurocognitif et comportemental pour la microdélétion 17q12. Il est important de poursuivre cette étude sur un plus large effectif étant donné qu'il est classique de retrouver un profil cognitif particulier en cas de syndrome microdélétionnel. Citons par exemple le syndrome de Williams-Beuren (microdélétion 7q11.23) (OMIM 194050) : dans ce syndrome, les patients ont un profil tout à fait spécifique avec de bonnes possibilités verbales et une bonne mémoire auditive mais des difficultés importantes à ce repérer dans l'espace [68].

L'absence de donnée pour certains items comme le sourire réponse, l'attention conjointe et les pointages a pu être dommageable pour l'évaluation des signes autistiques précoces. En effet l'autisme se caractérise par un développement altéré manifeste avant l'âge de 3 ans, avec une perturbation caractéristique du fonctionnement dans chacun des trois domaines suivants : altérations qualitatives des interactions sociales réciproques, altérations qualitatives de la communication et comportement au caractère restreint, répétitif et stéréotypé [69]. A noter que 72% des patients du groupe microdélétion et 82% des patients du groupe mutation avaient plus de 3 ans, ils étaient donc suffisamment âgés pour que l'on puisse, en théorie, se prononcer sur la présence ou l'absence de troubles autistiques.

La recherche de troubles autistiques a été réalisée à l'aide d'une échelle adaptée (CARS) pour les 8 patients du centre de Bordeaux comprenant 5 patients mutés et 3 patients délétés: aucun des patients testés ne présentait de troubles autistiques.

Un seul patient de notre étude était déjà suivi pour autisme lors de son inclusion (patient du centre de Limoges). Cet enfant fait parti des 3 patients autistes, porteurs d'une délétion 17q12, rapportés par Loirat *et al.* en 2010.

Suite à cette analyse clinique nous pouvons retenir les notions suivantes :

- des troubles neurologiques peuvent être retrouvés en cas d'anomalie du gène *HNF1B* et principalement en cas de microdélétion 17q12.
- il semble exister un large spectre de troubles neuropsychologiques.
- des patients porteurs d'une microdélétion 17q12 peuvent également suivre une scolarité normale.

C. L'origine des troubles neuropsychologiques : les hypothèses

Le gène *HNF1B* est sensible au dosage génique c'est-à-dire qu'il suffit qu'une seule copie du gène soit non fonctionnelle pour entraîner une production insuffisante de la protéine et provoquer l'apparition de perturbations développementales [24].

En cas de microdélétion, tous les gènes contenus dans la région concernée ne sont présents qu'à un seul exemplaire au lieu de deux. On parle d'haploinsuffisance de l'ensemble des gènes délétés. Les conséquences de l'haploinsuffisance ne sont pas les mêmes pour tous les gènes. Il est possible que pour la plupart des gènes de la région, une seule copie fonctionnelle du gène soit suffisante. L'absence d'une copie du gène se comporte alors comme une mutation récessive sans conséquence sur le phénotype clinique. Dans certains syndromes microdélétionnels, un seul gène peut être responsable du phénotype, citons par exemple le syndrome de Rubinstein-Taybi (OMIM 180849) où le tableau clinique est comparable en cas de microdélétion ou de mutation du gène *CREBBP* en 16p13.3 [70].

Pour la microdélétion 17q12 on ne sait pas si l'haploinsuffisance du gène *HNF1B* peut être responsable de tous les signes du syndrome ou si d'autres gènes de la région peuvent compléter le tableau clinique et concourir au phénotype neuropsychologique.

- ✓ **Hypothèse 1** : l'haploinsuffisance du gène *HNF1B* expliquerait les troubles neuropsychologiques

Dans notre étude, des difficultés scolaires ont été rapportées chez les patients porteurs d'une mutation du gène mais, ce ne sont que des données subjectives. L'analyse des données objectives n'a, quant-à-elle, pas retrouvé de différence significative entre les deux groupes.

Dans la littérature, deux publications Bingham *et al.* en 2001 et Shihara *et al.* en 2004, ont également rapporté le cas de troubles neurologiques chez 2 patientes porteuses d'une mutation du gène *HNF1B* [26, 35]. Il s'agissait de deux jeunes filles de 18 et 17 ans présentant des difficultés d'apprentissage et une épilepsie pour l'une d'entre elles. Avant d'incriminer le

gène *HNF1B*, il aurait été intéressant d'éliminer par une analyse pangénomique une autre anomalie génétique chez ces deux patientes.

Il est établi que le gène *HNF1B* joue un rôle dans le développement cérébral du rhombencéphale du zébrafish (poisson primitif) [15, 16] et de la souris [17] mais son rôle éventuel dans le développement cérébral de l'homme reste inconnu. Le rhombencéphale correspond à la moelle allongée, au pont et au cervelet.

Le cervelet fait partie des structures neuro-anatomiques pouvant être altérées dans l'autisme. En effet des études post-mortem et d'imagerie cérébrale réalisées chez des individus autistes ont retrouvé des anomalies du système limbique (amygdale, noyaux septaux, noyau accumbens, hippocampe, rhinencéphale, hypothalamus, insula, cortex entorhinal et cingulaire), du cervelet (réduction de volume du cervelet, réduction du nombre de cellules de Purkinje et des noyaux profonds du cervelet), du corps calleux ou du tronc cérébral [Piven et al, 1997].

A ce jour, l'hypothèse d'un retentissement de l'haploinsuffisance du gène *HNF1B* sur le développement neuropsychologique ne peut pas être exclue.

- ✓ **Hypothèse 2** : Le phénotype neuropsychologique résulterait de l'implication d'un ou de plusieurs gène(s) de la région 17q12.

L'hypothèse de l'imputabilité du gène *LHX1* (OMIM 601999) (Tableau 6) dans la genèse des troubles neurologiques a été évoquée à plusieurs reprises dans la littérature [3-7, 45]. En effet, on retrouve une implication de ce gène dans le développement des cellules de Purkinje du cervelet [71] et dans la migration des axones moteurs des membres [72]. Des modèles murins ont montré que *LHX1* jouait un rôle non négligeable dans le développement normal du cerveau chez la souris [73]. *LHX1* pourrait être un gène candidat responsable du phénotype neurocognitif des patients ayant un réarrangement génomique en 17q12.

Certains auteurs ont émis l'hypothèse que les troubles neurologiques pourraient résulter d'une atteinte biallélique du gène *LHX1*. Cette hypothèse a été testée chez 3 patients autistes présentant une délétion hétérozygote de 1,5 à 1,8Mb en 17q12, par Loirat *et al.*, en 2010. Les auteurs ont analysé par une technique de biologie moléculaire l'ensemble des exons du gène *LHX1* situé sur le chromosome non délété, mais aucune mutation n'a été retrouvée, par séquençage, chez les 3 patients publiés [3].

Les premiers résultats de cette étude nationale vont dans le sens d'une atteinte neurologique plus sévère chez les patients porteurs d'une microdélétion 17q12.

Une analyse par CGH array, a été réalisée chez les deux patients qui présentaient le plus de difficultés et qui nécessitaient une prise en charge médico-éducative: l'analyse génétique n'a pas permis de mettre en évidence un autre remaniement génomique que la microdélétion 17q12, qui aurait pu expliquer le retard de développement.

Cette deuxième hypothèse, en faveur d'un syndrome des gènes contigus, impliquant plusieurs gènes, semble plus appropriée pour expliquer les troubles neuropsychologiques, mais des études complémentaires seront nécessaires pour déterminer le ou les gènes candidats parmi l'ensemble des gènes localisés dans le fragment génomique remanié.

- ✓ **Hypothèse 3**: Les troubles neurologiques résulteraient d'un mécanisme plus complexe

Enfin, pour expliquer les troubles neuropsychologiques, Loirat *et al.* ont évoqué en 2010 l'existence potentielle de gènes modificateurs situés à distance du remaniement génomique, mais cette hypothèse reste à confirmer.

Une piste mériterait cependant d'être approfondie : il s'agit de la relation entre HNF1B et le facteur de transcription HOXA1 connu pour intervenir dans le développement cérébral et être un facteur de susceptibilité de l'autisme [74, 75]. Or nous avons évoqué dans les généralités l'existence d'interactions entre HNF1B et HOXA1 lors du développement du rhombencéphale [17] ; on peut donc imaginer un modèle de régulation réciproque défaillant à l'origine de l'apparition des troubles du spectre autistique.

Dans cette étude, les auteurs ont proposé un modèle de régulation du développement du rhombencéphale, en étudiant les gènes cibles d'un facteur de transcription HOXA1. Ce gène fait partie de la famille des gènes homéotiques, nommés gènes *HOX*, qui interviennent très tôt lors du développement de l'axe antéro-postérieur de l'embryon.

D. Une variabilité phénotypique plus importante dans le groupe microdélétion

Même si les difficultés semblaient plus sévères dans le groupe microdélétion, il est important de souligner que près de la moitié des enfants scolarisés ne présentaient aucune difficulté d'acquisition et suivaient une scolarité normale (6/13 soit 46%).

L'existence d'une grande variabilité phénotypique est une notion classiquement retrouvée dans les syndromes microdélétionnels. Prenons comme exemple la microdélétion 22q11.2, ou syndrome de DiGeorge (OMIM 188400), qui représente l'un des syndromes

microdélétionnels les plus courants. Ce syndrome est connu pour sa grande variabilité phénotypique intra et interfamiliale, tant sur le plan malformatif, cognitif que comportemental. Certains enfants atteints ont des problèmes médicaux sévères dès la naissance, notamment sur le plan cardio-vasculaire, alors que d'autres ne présentent que des manifestations physiques relativement discrètes et symptomatiques. Ce large spectre phénotypique reste inexpliqué.

Une grande variabilité d'expressivité semble également exister pour ce nouveau syndrome microdélétionnel 17q12.

E. La dysmorphie faciale associée aux microdélétions 17q12

Dans la littérature une seule publication a étudié la dysmorphie faciale de 9 patients porteurs d'une microdélétion 17q12, il s'agit de l'étude de Moreno-De-Luca en 2010. Les signes physiques mineurs constatés étaient les suivants : macrocéphalie (périmètre crânien supérieur au 90^{ème} percentile), épicanthus, fentes palpébrales obliques en haut et en dehors, sourcils hauts et arqués, dépression de la racine du nez et hypoplasie malaire.

Dans notre étude, les signes physiques mineurs les plus souvent retrouvés étaient: le front haut (76,5%, $p=0,026$), les joues pleines (76,5%, $p=0,0078$) et les yeux cernés (59%, $p=0,019$). Ces trois critères n'ont pas été rapportés par Moreno-De-Luca. En revanche, d'autres caractéristiques morphologiques signalées dans l'article de 2010 ont été retrouvées chez nos 17 patients (rappelons que nous n'avons pas pu obtenir de photographies pour un patient), il s'agissait des signes suivants : des sourcils hauts (41%), des sourcils arqués (47%) et la présence d'un épicanthus (41%) (Résultats non significatifs pour ces trois signes).

Un seul de nos patients présentait une macrocéphalie (a +4 DS) contrairement aux données rapportées dans la littérature. En effet Moreno-De-Luca *et al.* avaient relevé de façon quasi constante (chiffre exacte non précisé dans l'article) une macrocéphalie réelle ou relative dans leur série de 9 patients porteurs d'une microdélétion 17q12 [5]. Cette discordance surprenante pourrait être liée au mode d'inclusion des patients : dans l'étude de Moreno-De-Luca les patients ont été inclus à partir d'une « porte d'entrée » neurologique alors que dans notre étude « la porte d'entrée » était néphrologique. Nous avons démontré qu'il s'agissait des mêmes patients sur le plan cytogénétique mais la variabilité du phénotype clinique et notamment de l'existence ou non d'une macrocéphalie pourrait résulter d'interactions plus complexes. Nous avons précédemment évoqué l'existence d'interactions entre HNF1B et HOXA1, or en plus d'être un facteur de risque de troubles autistiques, HOXA1 agirait sur la vitesse de croissance du périmètre crânien indépendamment de la présence d'un autisme.

[76]. Des mécanismes complexes entre ces deux facteurs de transcription pourraient être une explication à cette discordance.

F. Les limites de l'étude

Les résultats de cette étude préliminaire ont une portée limitée compte tenu du faible effectif de notre étude et de l'existence de données manquantes. Néanmoins des résultats statistiquement significatifs ont été obtenus pour les signes dysmorphiques, et pour l'évaluation du quotient intellectuel, les résultats sont très proches du seuil de significativité requis.

V- CONCLUSION

Par cette étude et les données de la littérature nous confirmons que l'ensemble des patients présentant une délétion complète du gène *HNF1B* diagnostiquée par biologie moléculaire, ne sont pas porteurs d'une maladie monogénique mais d'un syndrome microdélétionnel 17q12 mis en évidence par cytogénétique moléculaire ou par biologie moléculaire.

En plus des anomalies rénales et extra-rénales, le syndrome microdélétionnel 17q12 semble s'associer plus fréquemment à des troubles du développement neuropsychologique que les mutations ponctuelles du gène *HNF1B*. De plus s'y associent des signes physiques mineurs comme le front haut, les yeux cernés et les joues pleines. La poursuite de cette étude génétique et clinique sur un plus grand nombre de patient est nécessaire pour valider ces observations.

La répercussion pratique de ces conclusions pourrait amener à :

- intégrer un suivi neuropsychologique, au suivi à long terme des patients inclus dans la cohorte néphropédiatrique française, pour mieux connaître le profil cognitif et comportemental ce syndrome microdélétionnel 17q12.
- proposer la FISH interphasique en première intention dans la stratégie diagnostique des patients présentant un tableau clinique évocateur d'un syndrome microdélétionnel 17q12.

REFERENCES

1. Ulinski, T., et al., *Renal phenotypes related to hepatocyte nuclear factor-1beta (TCF2) mutations in a pediatric cohort*. J Am Soc Nephrol, 2006. **17**(2): p. 497-503.
2. Decramer, S., et al., *Anomalies of the TCF2 gene are the main cause of fetal bilateral hyperechogenic kidneys*. J Am Soc Nephrol, 2007. **18**(3): p. 923-33.
3. Loirat, C., et al., *Autism in three patients with cystic or hyperechogenic kidneys and chromosome 17q12 deletion*. Nephrol Dial Transplant, 2010.
4. Mefford, H.C., et al., *Recurrent reciprocal genomic rearrangements of 17q12 are associated with renal disease, diabetes, and epilepsy*. Am J Hum Genet, 2007. **81**(5): p. 1057-69.
5. Moreno-De-Luca, D., et al., *Deletion 17q12 is a recurrent copy number variant that confers high risk of autism and schizophrenia*. Am J Hum Genet, 2010. **87**(5): p. 618-30.
6. Nagamani, S.C., et al., *Clinical spectrum associated with recurrent genomic rearrangements in chromosome 17q12*. Eur J Hum Genet, 2009. **18**(3): p. 278-84.
7. Raile, K., et al., *Expanded clinical spectrum in hepatocyte nuclear factor 1b-maturity-onset diabetes of the young*. J Clin Endocrinol Metab, 2009. **94**(7): p. 2658-64.
8. Mendel, D.B., et al., *HNF-1 alpha and HNF-1 beta (vHNF-1) share dimerization and homeo domains, but not activation domains, and form heterodimers in vitro*. Genes Dev, 1991. **5**(6): p. 1042-56.
9. Lu, P., G.B. Rha, and Y.I. Chi, *Structural basis of disease-causing mutations in hepatocyte nuclear factor 1beta*. Biochemistry, 2007. **46**(43): p. 12071-80.
10. Kato, N. and T. Motoyama, *Expression of hepatocyte nuclear factor-1beta in human urogenital tract during the embryonic stage*. Anal Quant Cytol Histol, 2009. **31**(1): p. 34-40.
11. Lazzaro, D., et al., *LFB1 and LFB3 homeoproteins are sequentially expressed during kidney development*. Development, 1992. **114**(2): p. 469-79.
12. Haumaitre, C., et al., *Severe pancreas hypoplasia and multicystic renal dysplasia in two human fetuses carrying novel HNF1beta/MODY5 mutations*. Hum Mol Genet, 2006. **15**(15): p. 2363-75.
13. Coffinier, C., et al., *Essential role for the homeoprotein vHNF1/HNF1beta in visceral endoderm differentiation*. Development, 1999. **126**(21): p. 4785-94.
14. Gresh, L., et al., *A transcriptional network in polycystic kidney disease*. Embo J, 2004. **23**(7): p. 1657-68.
15. Choe, S.K., et al., *hnf1b genes in zebrafish hindbrain development*. Zebrafish, 2008. **5**(3): p. 179-87.
16. Sun, Z. and N. Hopkins, *vhnf1, the MODY5 and familial GCKD-associated gene, regulates regional specification of the zebrafish gut, pronephros, and hindbrain*. Genes Dev, 2001. **15**(23): p. 3217-29.
17. Makki, N. and M.R. Capecchi, *Identification of novel Hoxa1 downstream targets regulating hindbrain, neural crest and inner ear development*. Dev Biol, 2011.
18. Horikawa, Y., et al., *Mutation in hepatocyte nuclear factor-1 beta gene (TCF2) associated with MODY*. Nat Genet, 1997. **17**(4): p. 384-5.
19. Nyunt, O., et al., *Investigating maturity onset diabetes of the young*. Clin Biochem Rev, 2009. **30**(2): p. 67-74.

20. Timsit, J., et al., *Diagnosis and management of maturity-onset diabetes of the young*. *Treat Endocrinol*, 2005. **4**(1): p. 9-18.
21. Kanwal, A., et al., *A narrative insight to maturity-onset diabetes of the young*. *Clinical Reviews and Opinions*, 2011. **3**.
22. Fajans, S.S., G.I. Bell, and K.S. Polonsky, *Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of maturity-onset diabetes of the young*. *N Engl J Med*, 2001. **345**(13): p. 971-80.
23. Chen, Y.Z., et al., *Systematic review of TCF2 anomalies in renal cysts and diabetes syndrome/maturity onset diabetes of the young type 5*. *Chin Med J (Engl)*, 2010. **123**(22): p. 3326-33.
24. Bellanne-Chantelot, C., et al., *Clinical spectrum associated with hepatocyte nuclear factor-1beta mutations*. *Ann Intern Med*, 2004. **140**(7): p. 510-7.
25. Bingham, C. and A.T. Hattersley, *Renal cysts and diabetes syndrome resulting from mutations in hepatocyte nuclear factor-1beta*. *Nephrol Dial Transplant*, 2004. **19**(11): p. 2703-8.
26. Bingham, C., et al., *Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1beta gene are associated with familial hypoplastic glomerulocystic kidney disease*. *Am J Hum Genet*, 2001. **68**(1): p. 219-24.
27. Edghill, E.L., et al., *Hepatocyte nuclear factor-1beta gene deletions--a common cause of renal disease*. *Nephrol Dial Transplant*, 2008. **23**(2): p. 627-35.
28. Adalat, S., et al., *HNF1B mutations associate with hypomagnesemia and renal magnesium wasting*. *J Am Soc Nephrol*, 2009. **20**(5): p. 1123-31.
29. Bingham, C., et al., *Atypical familial juvenile hyperuricemic nephropathy associated with a hepatocyte nuclear factor-1beta gene mutation*. *Kidney Int*, 2003. **63**(5): p. 1645-51.
30. Bellanne-Chantelot, C., et al., *Large genomic rearrangements in the hepatocyte nuclear factor-1beta (TCF2) gene are the most frequent cause of maturity-onset diabetes of the young type 5*. *Diabetes*, 2005. **54**(11): p. 3126-32.
31. Lebrun, G., et al., *Cystic kidney disease, chromophobe renal cell carcinoma and TCF2 (HNF1 beta) mutations*. *Nat Clin Pract Nephrol*, 2005. **1**(2): p. 115-9.
32. Rebouissou, S., et al., *Germline hepatocyte nuclear factor 1alpha and 1beta mutations in renal cell carcinomas*. *Hum Mol Genet*, 2005. **14**(5): p. 603-14.
33. Elliott, K.S., et al., *Evaluation of association of HNF1B variants with diverse cancers: collaborative analysis of data from 19 genome-wide association studies*. *PLoS One*, 2010. **5**(5): p. e10858.
34. Bingham, C., et al., *Solitary functioning kidney and diverse genital tract malformations associated with hepatocyte nuclear factor-1beta mutations*. *Kidney Int*, 2002. **61**(4): p. 1243-51.
35. Shihara, N., et al., *Identification of a new case of hepatocyte nuclear factor-1beta mutation with highly varied phenotypes*. *Diabetologia*, 2004. **47**(6): p. 1128-9.
36. Oram, R.A., et al., *Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1beta (HNF1B) gene are common with combined uterine and renal malformations but are not found with isolated uterine malformations*. *Am J Obstet Gynecol*, 2010. **203**(4): p. 364 e1-5.
37. Kitanaka, S., et al., *Promoter-specific repression of hepatocyte nuclear factor (HNF)-1 beta and HNF-1 alpha transcriptional activity by an HNF-1 beta missense mutant associated with Type 5 maturity-onset diabetes of the young with hepatic and biliary manifestations*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. **89**(3): p. 1369-78.
38. Yorifuji, T., et al., *Neonatal diabetes mellitus and neonatal polycystic, dysplastic kidneys: Phenotypically discordant recurrence of a mutation in the hepatocyte nuclear*

- factor-1beta gene due to germline mosaicism*. J Clin Endocrinol Metab, 2004. **89**(6): p. 2905-8.
39. Beckers, D., C. Bellanne-Chantelot, and M. Maes, *Neonatal cholestatic jaundice as the first symptom of a mutation in the hepatocyte nuclear factor-1beta gene (HNF-1beta)*. J Pediatr, 2007. **150**(3): p. 313-4.
 40. Weber, S., et al., *Prevalence of mutations in renal developmental genes in children with renal hypodysplasia: results of the ESCAPE study*. J Am Soc Nephrol, 2006. **17**(10): p. 2864-70.
 41. Edghill, E.L., et al., *Mutations in hepatocyte nuclear factor-1beta and their related phenotypes*. J Med Genet, 2006. **43**(1): p. 84-90.
 42. Rigothier, C., et al., *L'heterogeneite d'expression phenotypique de la mutation du gene TCF2 codant pour HNF-1beta illustree par une famille*. Nephrol Ther, 2009. **5**(4): p. 287-91.
 43. Heidet, L., et al., *Spectrum of HNF1B mutations in a large cohort of patients who harbor renal diseases*. Clin J Am Soc Nephrol, 2010. **5**(6): p. 1079-90.
 44. Nakayama, M., et al., *HNF1B alterations associated with congenital anomalies of the kidney and urinary tract*. Pediatr Nephrol, 2010. **25**(6): p. 1073-9.
 45. Muller, D., et al., *A complex phenotype with cystic renal disease*. Kidney Int, 2006. **70**(9): p. 1656-60.
 46. Sharp, A.J., et al., *Discovery of previously unidentified genomic disorders from the duplication architecture of the human genome*. Nat Genet, 2006. **38**(9): p. 1038-42.
 47. Mencarelli, M.A., et al., *Private inherited microdeletion/microduplications: implications in clinical practice*. Eur J Med Genet, 2008. **51**(5): p. 409-16.
 48. Bernardini, L., et al., *Recurrent microdeletion at 17q12 as a cause of Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser (MRKH) syndrome: two case reports*. Orphanet J Rare Dis, 2009. **4**: p. 25.
 49. Cheroki, C., et al., *Genomic imbalances associated with mullerian aplasia*. J Med Genet, 2008. **45**(4): p. 228-32.
 50. Haeri, S., et al., *Deletion of hepatocyte nuclear factor-1-beta in an infant with prune belly syndrome*. Am J Perinatol, 2010. **27**(7): p. 559-63.
 51. Murray, P.J., et al., *Whole gene deletion of the hepatocyte nuclear factor-1beta gene in a patient with the prune-belly syndrome*. Nephrol Dial Transplant, 2008. **23**(7): p. 2412-5.
 52. Magri, C., et al., *New copy number variations in schizophrenia*. PLoS One, 2010. **5**(10): p. e13422.
 53. Faguer, S., et al., *A 17q12 chromosomal duplication associated with renal disease and esophageal atresia*. Eur J Med Genet, 2011. **54**(4): p. e437-40.
 54. Machado, I.N., et al., *Copy number imbalances detected with a BAC-based array comparative genomic hybridization platform in congenital diaphragmatic hernia fetuses*. Genet Mol Res, 2011. **10**(1): p. 261-7.
 55. Slavotinek, A.M., *Novel microdeletion syndromes detected by chromosome microarrays*. Hum Genet, 2008. **124**(1): p. 1-17.
 56. Stankiewicz, P. and J.R. Lupski, *Genome architecture, rearrangements and genomic disorders*. Trends Genet, 2002. **18**(2): p. 74-82.
 57. Emanuel, B.S. and T.H. Shaikh, *Segmental duplications: an 'expanding' role in genomic instability and disease*. Nat Rev Genet, 2001. **2**(10): p. 791-800.
 58. Kumar, D., *Disorders of the genome architecture: a review*. Genomic Med, 2008. **2**(3-4): p. 69-76.
 59. Schluth-Bolard, C., et al., *Syndromes chromosomiques émergents*. Pathol Biol (Paris), 2008. **56**(6): p. 380-7.

-
60. Turner, D.J., et al., *Germline rates of de novo meiotic deletions and duplications causing several genomic disorders*. Nat Genet, 2008. **40**(1): p. 90-5.
 61. Cardone, M.F., et al., *Hominoid chromosomal rearrangements on 17q map to complex regions of segmental duplication*. Genome Biol, 2008. **9**(2): p. R28.
 62. Hodzic, D., et al., *TBC1D3, a hominoid oncoprotein, is encoded by a cluster of paralogues located on chromosome 17q12*. Genomics, 2006. **88**(6): p. 731-6.
 63. Frittoli, E., et al., *The primate-specific protein TBC1D3 is required for optimal macropinocytosis in a novel ARF6-dependent pathway*. Mol Biol Cell, 2008. **19**(4): p. 1304-16.
 64. Zody, M.C., et al., *DNA sequence of human chromosome 17 and analysis of rearrangement in the human lineage*. Nature, 2006. **440**(7087): p. 1045-9.
 65. Bourrillon, A., *Un être en voie de développement. Croissance et développement*. Edition Masson, 2008(5): p. 79-89.
 66. Shaffer, L.G., et al., *The identification of microdeletion syndromes and other chromosome abnormalities: cytogenetic methods of the past, new technologies for the future*. Am J Med Genet C Semin Med Genet, 2007. **145C**(4): p. 335-45.
 67. *Difficultés et troubles des apprentissages chez l'enfant à partir de 5 ans*. Guide pratique. Ministère de la santé et des sports, 2009 (Accessed september 2011, at <http://www.sante.gouv.fr>).
 68. Mervis, C.B., et al., *The Williams syndrome cognitive profile*. Brain Cogn, 2000. **44**(3): p. 604-28.
 69. *Autisme et autres troubles envahissants du développement: interventions éducatives et thérapeutiques coordonnées chez l'enfant et l'adolescent*. Haute Autorité de Santé, HAS, 2011 (Accessed september 2011, at <http://www.has-sante.fr>).
 70. Stef, M., et al., *Spectrum of CREBBP gene dosage anomalies in Rubinstein-Taybi syndrome patients*. Eur J Hum Genet, 2007. **15**(8): p. 843-7.
 71. Zhao, Y., et al., *LIM-homeodomain proteins Lhx1 and Lhx5, and their cofactor Ldb1, control Purkinje cell differentiation in the developing cerebellum*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. **104**(32): p. 13182-6.
 72. Kania, A., R.L. Johnson, and T.M. Jessell, *Coordinate roles for LIM homeobox genes in directing the dorsoventral trajectory of motor axons in the vertebrate limb*. Cell, 2000. **102**(2): p. 161-73.
 73. Shawlot, W. and R.R. Behringer, *Requirement for Lim1 in head-organizer function*. Nature, 1995. **374**(6521): p. 425-30.
 74. Ingram, J.L., et al., *Discovery of allelic variants of HOXA1 and HOXB1: genetic susceptibility to autism spectrum disorders*. Teratology, 2000. **62**(6): p. 393-405.
 75. Schaaf, C.P., et al., *Oligogenic heterozygosity in individuals with high-functioning autism spectrum disorders*. Hum Mol Genet, 2011. **20**(17): p. 3366-75.
 76. Muscarella, L.A., et al., *HOXA1 gene variants influence head growth rates in humans*. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2007. **144B**(3): p. 388-90.
 77. Loirat, C., et al., *Autism associated with HNF1B whole-gene deletion*, in ESPN. 2009: Birmingham.
 78. Nagamani, S.C., et al., *Clinical spectrum associated with recurrent genomic rearrangements in chromosome 17q12*. Eur J Hum Genet, 2010. **18**(3): p. 278-84.

Avis du comité d’Ethique

Protocole de l’étude

- Annexe 1 : TECHNIQUE DE PRELEVEMENT DES FROTTIS JUGAUX
- Annexe 2 : TECHNIQUE FISH
- Annexe 3 : QUESTIONNAIRE
- Annexe 4 : NOTICE EXPLICATIVE POUR REALISER LES PHOTOGRAPHIES
- Annexe 5 : SCHEMA D’ETUDE
- Annexe 6 : NOTICE D’INFORMATION AUX FAMILLES

Avis du comité d’Ethique

CHU LIMOGES

Commission Médicale d’Etablissement

Comité d’Ethique

Président : Docteur Gérard TERRIER

Avis 54-2010-12 :

Demande d’avis du Comité d’Ethique pour une étude :

«Diagnostic et description phénotypique des patients ayant un syndrome micro délétionnel 17q12. Etablissement de la première cohorte mondiale.» dont l’investigateur principal est le Professeur V. GUIGONIS, service de Pédiatrie, Hôpital de la Mère et de l’Enfant, CHU de Limoges.

Cette étude observationnelle permettra de déterminer :

- si tous les patients connus présentant une délétion du gène TCF2 ont une délétion limitée à ce gène ou plutôt un syndrome micro délétionnel 17q12.
- le phénotype exact des patients présentant un syndrome micro délétionnel 17q12, notamment sur le plan neurologique, afin de mieux connaître les caractéristiques cliniques liées à cette anomalie génétique pour mieux aider à la prise en charge post natale (suivi multidisciplinaire) et prénatale (conseil génétique).
- si les anomalies neurologiques ne sont rencontrées que dans les cas de syndrome micro délétionnel ou également dans les cas de mutation ponctuelle.

Le projet est exposé par le Professeur V. GUIGONIS qui, après avoir répondu aux questions, se retire.

Le Comité d’Ethique délibère et rend l’avis suivant à l’unanimité des membres présents :

Le Comité d’Ethique réuni le 16 septembre 2010 émet un avis favorable pour l’étude intitulée :

«Diagnostic et description phénotypique des patients ayant un syndrome micro délétionnel 17q12. Etablissement de la première cohorte mondiale.» dont l’investigateur principal est le Professeur V. GUIGONIS, service de Pédiatrie, Hôpital de la Mère et de l’Enfant, CHU de Limoges.

Avis émis en Comité d’Ethique du 16 septembre 2010.

Secrétariat : Caroline TAURON
05 55 05 26 14 (poste : 58 614)
(Service d’accompagnement et de soins palliatifs)



Protocole de l'étude



Diagnostic et description phénotypique des patients ayant un syndrome microdélétionnel 17q12. Etablissement de la première cohorte mondiale.

Rationnel.

Les anomalies du gène HNF1 β sont connues pour être à l'origine d'anomalies du développement rénal [1], de diabète de type MODY5 [25], et d'autres anomalies développementales notamment au niveau hépatique et gynécologique [24].

Deux types d'anomalies génétiques du gène HNF1 β ont été décrites à ce jour : des mutations ponctuelles ou des délétions de l'ensemble de ce gène [30]. En ce qui concerne les délétions des patients présentant un phénotype rénal, à chaque fois que celles-ci ont été bornées (soit par QMPSF soit par CGH array) leur taille était de 1,4 Mb à l'exception d'un cas [1], il est donc envisageable que pour la plupart des patients la délétion mise en évidence emporte beaucoup plus que le seul gène HNF1 β réalisant par la même un syndrome micro délétionnel sur le chromosome 17q12. Cependant, en routine, c'est uniquement la délétion du gène HNF1 β qui est actuellement recherchée par QMPSF.

La cohorte française des patients pédiatriques présentant une anomalie du développement rénal secondaire à une anomalie du gène HNF1 β est coordonnée à Limoges par le Pr. Guignonis en collaboration avec le CIC dans le cadre du centre de référence des maladies rénales rares (CDR SORARE) (N° ClinicalTrial :NCT00760331). Des données préliminaires ont mis en évidence une surreprésentation de patients autistes dans cette cohorte [77], ainsi que très probablement une surreprésentation de troubles neurologiques autres (données personnelles non encore publiées). Il est vraisemblable que la majorité des ces cas présentant une délétion du gène HNF1 β présentent en fait un syndrome micro délétionnel plus large. A l'heure actuelle, la description de ce syndrome micro délétionnel n'a été le fait que de cas rapportés [4, 48, 78].

Compte tenu de l'ensemble de ces éléments, il apparaît aujourd'hui important de :

- Déterminer si tous les patients connus présentant une délétion du gène HNF1 β ont une délétion limitée à ce gène ou plutôt un syndrome micro délétionnel 17q12.
- Déterminer le phénotype exact des patients présentant un syndrome micro délétionnel 17q12, notamment sur le plan neurologique, afin de mieux connaître les caractéristiques cliniques liées à cette anomalie génétique pour mieux aider à la prise en charge post natale (suivi multidisciplinaire) et prénatale (conseil génétique).
- Déterminer si les anomalies neurologiques ne sont rencontrées que dans les cas de syndrome microdélétionnels ou également dans les cas de mutation ponctuelle.

Cette étude est proposée pour répondre à ces questions.

Objectif principal.

Décrire le phénotype neurologique et général des patients présentant un syndrome micro délétionnel 17q12 (qu'ils aient des troubles neurologiques ou non).

Objectif secondaire.

Mettre en évidence d'éventuelles corrélations phénotype/génotype au sein de la cohorte des patients présentant une délétion HNF1 β en comparant le phénotype des patients présentant une délétion limitée au gène (ou une mutation ponctuelle) et des patients présentant un syndrome micro délétionnel.

Vérifier que les patients présentant une mutation ponctuelle ne présentent pas d'anomalies neurologiques.

Confirmer les caractéristiques morphologiques des enfants présentant une délétion en 17q12.

Critère de jugement principal.

Évaluation neurologique, du développement psychomoteur et comportemental des enfants présentant une délétion du gène HNF1 β que celle-ci soit limitée au gène ou dans le cadre d'un syndrome micro délétionnel.

Nombre de sujets de l'étude.

Au dernier recensement, au niveau national auprès des laboratoires de diagnostic, il y avait 98 enfants connus pour avoir des anomalies du développement rénal en rapport avec une anomalie du gène HNF1 β . Parmi ces enfants entre 50 et 60 % présentent des délétions du gène, les autres présentant des mutations ponctuelles. L'objectif de cette étude est de recruter et d'inclure le maximum d'enfants présentant une délétion du gène HNF1 β .

Dans la mesure où la plupart de ces enfants sont déjà inclus dans la cohorte de suivi prospectif national coordonné par le CIC de Limoges, l'étude présentée ici ne sera en fait qu'une étude ancillaire de la cohorte déjà en cours et bénéficiera donc à la fois de la dynamique de recrutement en cours pour la cohorte (nombre d'inclusions au 31 mai : 69) et de la logistique du CIC. Cette cohorte est actuellement la plus importante connue au niveau mondial.

Le nombre d'enfants à inclure a été défini à 50 compte-tenu des possibilités de recrutement et du nombre nécessaire pour décrire avec suffisamment de précision le phénotype de cette maladie rare.

Type d'étude.

Étude observationnelle : évaluation des soins courants et de détection pour les patients à risque d'anomalies du développement psychomoteur.

En effet, devant un syndrome microdélétionnel chez l'enfant, il est de [70] pratique courante de réaliser une évaluation multidisciplinaire, notamment neurologique, compte tenu de la fréquence des atteintes multi-viscérales et spécifiquement neurologiques dans ce contexte.

Que ce soit dans le cadre de cette étude ou en dehors, il est donc de pratique courante en cas de suspicion de syndrome microdélétionnel de 1/confirmer ce diagnostic et 2/ proposer une prise en charge adaptée en cas de confirmation, avec notamment une évaluation neurologique.

Critères d'inclusion.

Patients déjà inclus dans la cohorte de surveillance longitudinale HNF1 β quelque soit l'anomalie génétique ayant causé l'invalidation du gène HNF1 β .

-Les patients d'âge pédiatrique, suivis pour des anomalies du développement rénal en relation avec une délétion du gène HNF1 β auront une analyse phénotypique et génétique.

-Les patients d'âge pédiatrique, suivis pour des anomalies du développement rénal en relation avec une mutation du gène HNF1 β auront une analyse phénotypique uniquement.

Critères de non inclusion.

Absence d'anomalies du gène HNF1 β .

Patients de plus de 18 ans.

Schéma de l'étude.

Tous les patients répondant aux critères d'inclusion, après information du patient (si l'âge le permet) et des titulaires de l'autorité parentale, participeront à cette étude.

Pour tous les enfants

Une consultation avec le pédiatre en charge de l'enfant sera programmée dans le cadre du suivi habituel. Cette consultation, outre le suivi habituel, permettra de remplir une évaluation objective et standardisée du développement neurologique et psychomoteur de l'enfant dans le cadre du CRF joint en annexe 3.

Ne pas oublier de noter sur le questionnaire le N° d'inclusion de l'enfant dans la cohorte de surveillance longitudinale du gène HNF1 β .

Afin de limiter la retranscription des informations, une photocopie de la courbe de croissance (y compris PC jusqu'à 3 ans) sera jointe au CRF, ainsi que les photocopies des pages du carnet de santé correspondant aux examens systématiques du 4ème, 9ème et 24ème mois.

La réalisation de photographies est préconisée pour chaque enfant inclus mais elle ne doit pas être un frein à l'inclusion des enfants dans l'étude. Le but est de chercher d'éventuels signes physiques mineurs associés aux anomalies d'HNF1 β . L'ensemble des photos sera analysé par le Pr. Lacombe, Service de Génétique Clinique de Bordeaux.

La notice explicative pour la réalisation des photos se trouve en annexe 4 et le consentement des parents est joint en annexe 5.

Les données recueillies sur CRF papier seront adressées au CIC de Limoges pour centralisation des données avant une analyse conjointe par les équipes de pédiatrie de Bordeaux (Dr Llanas) et Limoges (Pr Guignon).

En cas de découverte d'anomalie lors de cette évaluation objective, une consultation auprès d'un neuropédiatre et d'un(e) psychologue permettra la réalisation de tests standardisés pour évaluation du développement cognitif et comportemental de l'enfant.

En cas de mise en évidence d'anomalies lors du bilan neurologique, une prise en charge adaptée sera proposée par le médecin référent en charge de l'enfant et le neurologue référent du site.

Uniquement dans le cadre des patients présentant une délétion

Un frottis jugal sera réalisé selon le protocole joint en annexe 1. Ces lames seront envoyées au service de cytogénétique du CHU de Limoges (Pr. Yardin) pour réalisation d'une FISH permettant de mettre en évidence une éventuelle délétion et en déterminer ses limites. Le détail de la technique utilisée est présenté en annexe 2.

Rôle du CIC.

Le CIC aura en charge :

- L'animation de l'étude et la facilitation au recrutement par l'organisation logistique de l'étude et la diffusion des informations concernant cette étude auprès des investigateurs.
- L'organisation logistique de l'étude permettant une réalisation et un acheminement facile des prélèvements.
- Le recueil centralisé des prélèvements et pré traitement éventuel des lames avant transfert au laboratoire de cytogénétique.
- le recueil centralisé des données cliniques neurologiques et l'aide à la mise en place d'une base de données anonymisées à partir de ces informations.

Consentement.

Il s'agit d'une étude uniquement observationnelle sans modification des pratiques habituelles. Cette étude a uniquement pour but d'homogénéiser les pratiques compte tenues des données cliniques et biologiques concernant la cohorte des enfants suivis pour une délétion du gène HNF1 β . Cette étude ne rentre donc pas dans le cadre de l'article L. 1121-1 du code de santé publique ayant trait aux recherches biomédicales. Un consentement n'est donc pas nécessaire dans le cadre de cette étude en ce qui concerne le recueil des données cliniques. Par contre la technique utilisée ayant trait à la détermination des caractéristiques génétiques, un consentement sera demandé aux parents avant l'étude en cytogénétique, conformément à la réglementation en vigueur. De même un consentement sera demandé afin de pouvoir utiliser les photos à des fins scientifiques.

Une information globale sur l'étude sera délivrée au patient et à ses parents, oralement et par écrit à l'aide du document présenté en annexe 6.

Balance bénéfiques/risques.

La notion de balance bénéfiques/risques ne rentre pas en compte dans cette étude observationnelle d'évaluation des soins courants.

Enfin, la détection précoce d'éventuels troubles du développement psychomoteur permettra un dépistage et une prise en charge adaptée précoce.

Cette étude sera présentée pour validation au comité d'éthique de l'hôpital Dupuytren dans le cadre de la réglementation sur les études observationnelles.

Budget

Le budget de cette étude est évalué à 6955 euros.

Perspectives.

Ce projet a pour objectifs de :

- diagnostiquer, colliger et décrire la plus grande cohorte de syndrome micro délétionnel 17q12 au niveau mondial.
- Préciser le phénotype neurologique de ce syndrome micro délétionnel pour en définir le pronostic.
- Prendre en charge précocement et de façon adapté les éventuels troubles du développement psychomoteur notés au chez les patients présentant un syndrome microdélétionnel 17q12.

L'ensemble de ces données permettront par la suite de mieux connaître le rôle de cette région du chromosome 17 dans le développement psychomoteur des enfants, et de proposer une meilleure prise en charge des enfants présentant cette anomalie que ce soit en postnatal (consultation multidisciplinaire) ou en prénatal (conseil génétique).

Règles de publication.

Le membre de l'équipe de néphrologie pédiatrique de Bordeaux (B Llanas) qui coordonnera le recueil et l'analyse des données sera en second auteur ou dernier auteur ex aequo.

Le membre (junior) de l'équipe de pédiatrie de Limoges (F Laffargue) en charge de l'étude sera en premier auteur ex aequo.

Le membre de l'équipe de cytogénétiques de Limoges (S Bourthoumieu) en charge l'étude sera en premier auteur ex aequo.

Les seniors de l'équipe de pédiatrie (V Guignonis) et de cytogénétiques (C Yardin) en charge de l'étude feront parti des signataires.

- V Guignonis sera en dernier auteur ex aequo ou en second auteur (en fonction de la place de B Llanas). La place relative de ces deux auteurs sera définie en fonction de celui qui participera directement à l'écriture finale du manuscrit avec F Laffargue.
- C Yardin sera dernier auteur ex-aequo

Les médecins ayant contribué à la détermination et au recueil du phénotype neurologique des patients inclus feront parti des auteurs (Neurologue Pédiatre à Limoges, Généticien à Bordeaux)

Les correspondants de chaque centre ayant inclus les patients feront parti des signataires (un seul signataire par centre), l'ordre sera déterminé en fonction du nombre de patients inclus dans l'étude.

ANNEXE 1

PRELEVEMENT DE FROTTIS JUGAUX
PROTOCOLE SYNDROME MICRO DELETIONNEL 17q12

CONDITIONS GENERALES

Types de prélèvement : 6 lames de frottis jugaux par patient.

Formalités administratives : remplir la feuille de **demande d'analyse de cytogénétique constitutionnelle** avec le consentement signé du ou des représentants légaux de l'enfant et la signature du médecin prescripteur.

Résultats : les résultats seront transmis au médecin prescripteur.

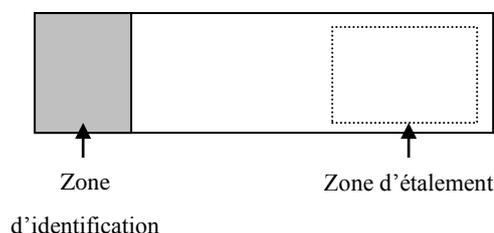
PROTOCOLE DE PRELEVEMENT

Kit de prélèvement (fourni par le laboratoire)

- Lames (6 lames par patient)
- Abaisse-langues en bois ou spatules d'Ayre en bois à usage unique (6 par patient)
- Boîtes à compartiments en plastique (2 par patient)
- Laque pour la fixation (une par centre)
- Feuille de demande d'analyse de cytogénétique constitutionnelle
- Enveloppe de retour adressée au laboratoire de cytogénétique de Limoges

Technique de prélèvement

- 1- Gratter la muqueuse jugale (face interne d'une joue) du patient à l'aide de l'abaisse-langue ou de la spatule d'Ayre en bois (changer de côté à chaque prélèvement).
- 2- Etaler le prélèvement en exerçant une pression modérée et constante de l'abaisse-langue ou de la spatule **sur la moitié de la lame (zone d'étalement), opposée à la zone dépolie (zone d'identification)**. Etaler le plus possible de cellules.



- 3- Vérifier le dépôt de cellules par transparence
- 4- Fixer le prélèvement par 5 pulvérisations de laque fixation forte à 15-20cm de la lame.
- 5- Réaliser 5 autres prélèvements (5 lames supplémentaires).
- 6- Identifier les 6 lames en inscrivant le nom et le prénom du patient à l'aide **d'un crayon à papier sur la partie dépolie de la lame (zone d'identification)**.
NB : l'identification et l'étalement du prélèvement devront être réalisés sur la même face de la lame.
- 7- Les lames doivent être envoyées dans les boîtes à compartiment en plastique assurant leur préservation et accompagnées de la demande d'examen cytogénétique.

ANNEXE 2

TECHNIQUE FISH

- 1. Fixation** des lames 30 min dans une solution Méthanol/Acide acétique.
- 2. Pré traitement**
 - 20 min dans une solution de pepsine à 37°C
 - rinçage 5 min dans du PBS à température ambiante.
 - Séchage des lames.
 - 5 min dans la solution de post-fixation à température ambiante
 - 2^{ème} rinçage 5 min dans du PBS.
- 3. Deshydratation** des lames par 3 bains d'alcool successifs (70%-85%-100%)
- 4. Préparation et dépôt des sondes**
- 5. Dénaturation** à 73° C pendant 4 min.
- 6. Hybridation** à 37°C une nuit
- 7. Lavages des lames**
 - lavage n°1 :2 min à 73°C
 - lavage n°2 : quelques secondes à température ambiante
- 8. Contre-coloration** au DAPI
- 9. Lecture de la lame au microscope à fluorescence**
(ZEISS Axioplan 2 imaging, logiciel cytovision)

ANNEXE 3

Etude HNF1 β : Evaluation Neurologique

N° d'inclusion dans la cohorte :

= n° disponible sur le site www.tcf2longitudinal.fr.

Réalisée par :

Date : |_|_| |_|_| |_|_|_|_|

ENFANT

Nom : Prénom : Sexe : M F
 Date de naissance : |_|_| |_|_| |_|_|_|_| Patient suivi pour : Mutation Déletion d'HNF1 β

GROSSESSE ET NAISSANCE

Terme : |_|_| SA + |_| J Apgar : 1' |_|_| 3' |_|_| 5' |_|_|
 Taille de naissance : |_|_| cm Poids de naissance : |_|_|_|_| g Périmètre crânien : |_|_| cm

Echographie fœtale : Anomalies du SNC : oui non Si oui, lesquelles :

IRM fœtale : Anomalies du SNC : oui non Si oui, lesquelles :

Hospitalisation en Réanimation ou Néonatalogie : oui non Durée :

Motif :

ETF : oui non Si oui, anomalie(s) retrouvée(s) :

EEG : oui non Si oui, anomalie(s) retrouvée(s) :

IRM cérébrale : oui non Si oui, anomalie(s) retrouvée(s) :

Convulsions néonatales : oui non

DONNEES FAMILIALES

Consanguinité : oui non

Arbre généalogique :

DEVELOPPEMENT PSYCHOMOTEUR

- Tenue de tête : |_|_| mois NA ND
- Station assise sans appui : |_|_| mois NA ND
- Marche indépendante : |_|_| mois NA ND
- Préhension pouce-index : |_|_| mois NA ND
- Vocalise : |_|_| mois NA ND
- Premiers mots : |_|_| mois NA ND
- Phrases construites : |_|_| mois NA ND
- Sourire réponse : |_|_| mois NA ND
- Joue avec les autres : oui non NA ND
- Attention conjointe : oui non NA ND
- Pointage proto déclaratif : oui non NA ND
- Pointage proto impératif : oui non NA ND

Graphisme : Rond : oui non NA ND Ecriture : Lettres bâton : oui non NA ND

Carré : oui non NA ND Lettres attachées : oui non NA ND

Propreté : Diurne : oui Age : non NA ND

Nocturne : oui Age : non NA ND

NA : Non Applicable ND : Non Disponible

1/2

Surdité : oui non ND Déficit visuel : oui non ND
 Si oui, merci de préciser :

Troubles du sommeil : oui non Troubles alimentaires : oui non
 Si oui, merci de préciser :

EXAMEN CLINIQUE - SUIVI

Age : Poids : Taille : PC : |_|_| cm

Retard staturo pondéral : oui non Retard de langage : oui non

Dysmorphie : oui non Si oui, merci de préciser :

Anomalie de la pigmentation : oui non

Communication verbale : oui non Communication non verbale : oui non

Troubles du comportement : oui non Si oui, merci de préciser :

Epilepsie: oui non Si oui, merci de préciser :

Examen neurologique :

Marche : Normale : oui non NA

Tonus : Normal : oui non

ROT : MS : Normaux : oui non Vifs : oui non

Diffusés : oui non Absents : oui non

MI : Normaux : oui non Vifs : oui non

Diffusés : oui non Absents : oui non

Troubles de la motricité : oui non Si oui, préciser : fine grossière

Syndrome cérébelleux : oui non Syndrome pyramidal : oui non

Oculo-motricité : Normale : oui non Pupilles : Normales : oui non

Autres anomalies :

Imagerie cérébrale : oui non

Si oui, merci de préciser : Scanner IRM EEG Date : |_|_| M |_|_|_|_| A

Indication :

Résultat :

Suivi neuropédiatrique : oui non Si oui, pourquoi :

Coordonnées du Neuropédiatre réalisant le suivi :

SCOLARITE - PRISE EN CHARGE MEDICO-EDUCATIVE

Scolarité : Normale : oui non Classe : AVS : oui non

Prise en charge médico-éducative : oui non Type de structure :

Orthophonie : oui (nombre de séance par semaine :) non

Psychomotricité : oui non Ergothérapie : oui non

Suivi psychologique ou pédopsychiatrique : oui non

Merci de joindre les photocopies des pages du carnet de santé (courbes de croissance et examens systématiques du 4 me, 9 me et 24 me mois) et les photos du patient (face + profil + mains +/- pieds si anomalies).

2/2

ANNEXE 4

NOTICE EXPLICATIVE POUR REALISER LES PHOTOGRAPHIES**La prise des photos**

- **Visage** : Photo de face et profil de type « photo d'identité ».
Expression neutre du visage si possible.
Bien dégager l'oreille pour le profil.
Retirer les lunettes.
- **Mains** : Photo de la paume et du dos de la main en gros plan.
- **Pieds** : Photos des pieds si anomalies cliniques.
- Obtenir l'accord des parents avec la signature du consentement joint en annexe 5. (Envoyer ce consentement, avec les autres documents papiers, dans l'enveloppe préremplie et préaffranchie).

L'envoi des photos

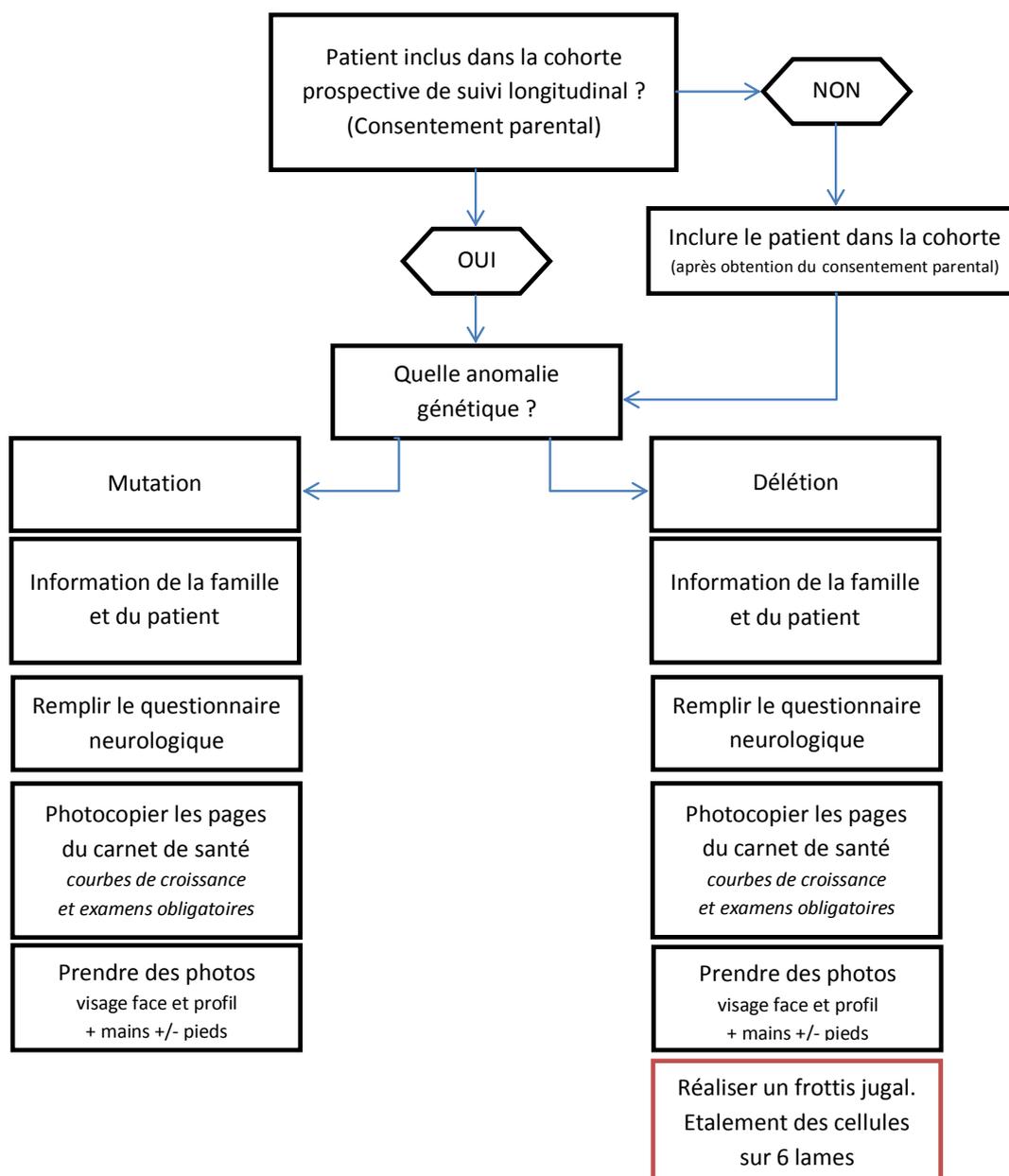
- Merci d'envoyer les photos par mail en précisant uniquement le numéro d'inclusion de l'enfant dans la cohorte de surveillance longitudinale HNF1 β . (ce numéro nous permettra de mettre en relation la photo de l'enfant avec le questionnaire d'évaluation neurologique correspondant tout en préservant l'anonymat).
- Destinataire du mail : fanny.laffargue@etu.unilim.fr
- L'ensemble des photos sera analysé par le Pr Lacombe (Service de Génétique Clinique à Bordeaux) afin de chercher d'éventuels signes physiques mineurs.

ANNEXE 5

**Diagnostic et description phénotypique
des patients ayant un syndrome micro délétionnel 17q12.**

Concerne tous les patients suivis pour une anomalie HNF1- β (mutation ou délétion)

🌀 En pratique 🌀



- ⇒ Envoyer tous les documents papiers et les lames (pour les enfants ayant eu un frottis jugal) dans l'enveloppe préremplie et préaffranchie.
- ⇒ Envoyer les photos par mail (annexe 4).

ANNEXE 6



NOTICE D'INFORMATION



Madame, Monsieur,

Vous savez que votre enfant présente une anomalie du développement rénal d'origine génétique liée à l'atteinte du gène nommé « HNF1 β ». Vous avez accepté que votre enfant soit suivi dans le cadre d'une étude nationale intitulée « Suivi longitudinal à long terme d'une cohorte d'enfants mutés TCF-2. Devenir endocrinien et rénal », et nous vous en remercions.

Chacun d'entre nous possède deux copies de chaque gène. Dans le cas de votre enfant, il manque un de ses deux gènes HNF1 β expliquant les anomalies rénales. Des données récentes semblent indiquer que la partie manquante ne se limiterait peut-être pas au seul gène HNF1 β , mais pourrait, dans certain cas, s'étendre à d'autres gènes situés à proximité : on parle de syndrome micro délétionnel du chromosome 17 (sur le quel le gène HNF1 β se trouve).

D'autres syndromes microdélétionnels impliquant des gènes différents sur d'autres chromosomes sont connus. Les enfants présentant ces autres syndromes microdélétionnels ont souvent des troubles neurologiques, ce qui ne semble pas être le cas dans le syndrome micro délétionnel du chromosome 17. En effet, même si quelques enfants ayant cette atteinte ont des difficultés neurologiques, il semble que la majorité des enfants français connus avec la même maladie aient un développement neurologique normal.

Il est de ce fait important de rechercher si votre enfant a uniquement une anomalie du gène HNF1 β ou un syndrome microdélétionnel plus étendu. C'est la raison pour laquelle le médecin en charge de votre enfant vous propose de réaliser un examen génétique à partir d'un frottis jugal (prélèvement indolore avec un abaisse langue passé sur l'intérieur de la joue). Dans le même temps votre médecin évaluera précisément le développement de votre enfant afin de s'assurer que tout se déroule correctement de ce point de vue. La réalisation de photographies permettra la mise en évidence d'éventuels signes physiques mineurs associés à ce syndrome microdélétionnel.

Toutes ces données seront ensuite rassemblées pour mieux préciser les connaissances médicales en fonction des anomalies génétiques constatées (anomalie du gène ou syndrome microdélétionnel), dans le but de mieux informer les familles et de mieux prendre en charge les enfants.

Les résultats de l'analyse génétique seront rendus au néphrologue pédiatre qui suit votre enfant.

Le Dr reste à votre disposition pour répondre aux questions que vous pourriez avoir concernant cette analyse génétique complémentaire.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette école, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je dispenserai mes soins sans distinction de race, de religion, d'idéologie ou de situation sociale.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser les crimes.

Je serai reconnaissant envers mes maîtres, et solidaire moralement de mes confrères. Conscient de mes responsabilités envers les patients, je continuerai à perfectionner mon savoir.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir de l'estime des hommes et de mes condisciples, si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

DIAGNOSTIC ET DESCRIPTION DU PHENOTYPE NEUROPSYCHOLOGIQUE DES PATIENTS PRESENTANT UN SYNDROME MICRODELÉTIONNEL 17q12.

L'atteinte du gène *HNF1B* (*TCF2*) situé en 17q12 est responsable chez l'enfant principalement d'anomalies du développement rénal. Deux types d'atteinte 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 du développement neuropsychologique.

Objectifs : Les deux objectifs de notre étude étaient de i) déterminer si tous les patients, connus pour avoir une délétion du gène *HNF1B*, étaient en réalité porteurs d'une microdélétion 17q12 et ii) de décrire le phénotype neuropsychologique des enfants avec une microdélétion 17q12 en le comparant à celui des patients présentant une anomalie limitée au gène *HNF1B*.

Matériel et méthodes : 29 patients suivis en néphrologie pédiatrique pour des anomalies rénales secondaires à une atteinte du gène *HNF1B* (18 délétions et 11 mutations) ont été inclus. L'analyse cytogénétique, réservée aux patients porteurs d'une délétion, reposait sur une technique de FISH (Fluorescence *In Situ* hybridation) à partir d'un simple frottis jugal. L'analyse clinique comportait un questionnaire d'évaluation neurologique et la réalisation de photographies pour la recherche d'une dysmorphie faciale. Un sous-groupe de patients a également bénéficié d'une évaluation neuropsychologique.

Résultats : Une large délétion en 17q12, d'au moins 1,3 Mb, a systématiquement été mise en évidence par FISH chez les 18 patients porteurs d'une délétion. Le syndrome microdélétionnel 17q12 semblait plus fréquemment associé à des troubles du développement neuropsychologique que les mutations ponctuelles du gène *HNF1B*. Un quotient intellectuel plus faible a été retrouvé dans le groupe microdélétion par rapport au groupe mutation ($p=0,006$). Des signes dysmorphiques comme le front haut ($p=0,0026$), les yeux cernés ($p=0,019$) et les joues pleines ($p=0,0078$) apparaissaient spécifiques du syndrome microdélétionnel.

Conclusion : Les délétions complètes du gène *HNF1B* ne sont pas des maladies monogéniques mais des syndromes microdélétionnels 17q12 pouvant parfois s'associer à des troubles du développement neuropsychologique de sévérité variable. Inclure un suivi neuropsychologique à la prise en charge actuelle des patients porteurs d'une anomalie du gène *HNF1B* semble essentiel.

Mots-clés : gène *HNF1B*, microdélétion 17q12, phénotype neuropsychologique, FISH interphasique

DIAGNOSIS AND DESCRIPTION OF NEUROPSYCHOLOGICAL PHENOTYPE OF CHILDREN WITH 17q12 MICRODELETION SYNDROME

17q12-located *HNF1B* (*TCF2*) gene disorder is mainly responsible for renal development abnormalities in children. Two types of disorders are described: mutations and deletions. Based on literature data, deletions wouldn't be limited to this single gene but would include 15 genes. Therefore, they would correspond to 17q12 genomic reorganization, which are diagnosed using CGH arrays and classically associated with neuropsychological development disorders.

Objectives: The two main objectives of our study were to i) determine whether all patients with *HNF1B* gene deletion actually had 17q12 microdeletion and ii) describe the neuropsychological phenotype of patients with 17q12 microdeletion compared to that of children with an abnormality limited to *HNF1B* gene.

Material and methods: 29 children cared for by paediatric nephrologists for renal abnormalities following *HNF1B* alteration (18 deletions and 11 mutations) were included. Cytogenetic analysis of patients with deletion was performed with FISH on a simple oral smear. Clinical analysis included a neurological evaluation test and face photos in search of dysmorphic signs. A subgroup of patients also benefited from a neuropsychological evaluation.

Results: A large 17q12 deletion of at least 1.3 Mb was systematically displayed with FISH in all 18 children with *HNF1B* deletion. 17q12 microdeletion was more frequently associated to neuropsychological development disorders than *HNF1B* punctual mutation. A lower intellectual quotient was found in the microdeletion group compared with the mutation group ($p=0.006$). Some dysmorphic signs including high forehead ($p=0.0026$), shadows under the eyes ($p=0.019$) and chubby cheeks ($p=0.0078$) appeared specific for microdeletion.

Conclusion: Complete deletions of *HNF1B* gene do not correspond to monogenic diseases but represent microdeletion syndromes that may be associated with neuropsychological development disorders of variable severity. Adding a neuropsychological follow-up to the routine care seems essential for patients with *HNF1B* disorders.

Key words: *HNF1B* gene, 17q12 microdeletion, neuropsychological phenotype, interphasic FISH