

# MÉCANISME D'UN REMANIEMENT CHROMOSOMIQUE COMPLEXE À PLUS DE 15 POINTS DE CASSURES IMPLIQUANT UN CHROMOSOME 18 CHEZ UN ENFANT DE 30 MOIS AVEC RETARD GLOBAL DES ACQUISITIONS

Kleinfinger P (1), Bazin A (1), Plaisancie J (3), Cances C (2), Trost D (1), Lohmann L (1)

(1) Laboratoire Cerba, Département de Génétique, Saint-Ouen l'Aumône (2) Unité de neurologie pédiatrique, Hôpital des Enfants, CHU Toulouse (3) Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, CHU Toulouse

## INTRODUCTION

Nous rapportons ici le cas d'un enfant de 2 ans et demi qui présente un retard psychomoteur s'inscrivant dans un cadre syndromique, en rapport avec une anomalie complexe du chromosome 18, diagnostiquée en cytogénétique conventionnelle. Afin d'élucider ce remaniement, une puce à ADN hautement résolutive a été réalisée et nous a révélé une complexité bien supérieure à celle imaginée, puisque le remaniement chromosomique comporte plus de 15 points de cassure, localisés à la fois sur les bras courts et sur les bras longs du chromosome 18. Nous détaillerons le tableau clinique du patient et les résultats de cytogénétique conventionnelle et moléculaire et discuterons le mécanisme de formation de ce remaniement chromosomique complexe, qui évoque fortement celui d'un chromoanasythesis.

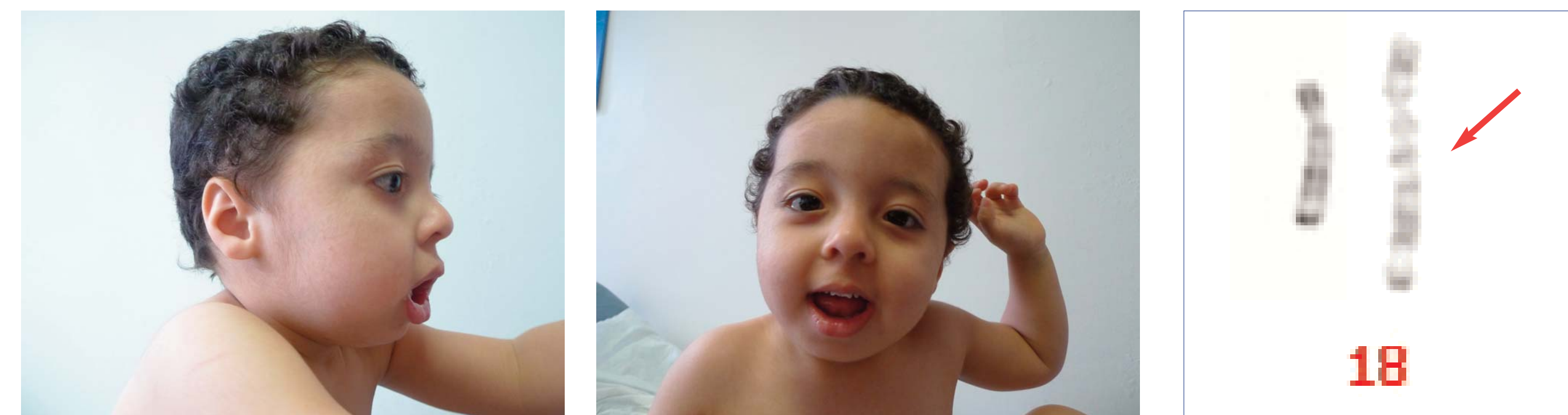
## TABLEAU CLINIQUE & ANALYSE DU REMANIEMENT CHROMOSOMIQUE

### Tableau clinique

Il s'agit d'un petit garçon né eutrophe, au terme d'une grossesse sans particularité, avec un périmètre crânien (PC) augmenté (+3DS). La période néonatale est marquée par des difficultés initiales d'alimentation, spontanément régressives et par la prise en charge d'une trachéomalacie. Les acquisitions motrices se sont faites avec décalage : une tenue de tête à 9 mois, une marche acquise à 26 mois ; sur le plan du langage, il maîtrise seulement quelques mots, sans association ; les interactions sociales sont de bonne qualité. Il existe une dilatation pyelocalicelle unilatérale sans autre malformation viscérale. A 2 ans et demi, la croissance staturo-pondérale est satisfaisante et le PC mesuré à -0.5DS ; l'examen neurologique est normal et il existe une dysmorphie crânio-faciale (**Figure 1**). Il s'agit de l'unique enfant d'un couple jeune, non apparenté et originaire du Maroc, sans antécédents particuliers.

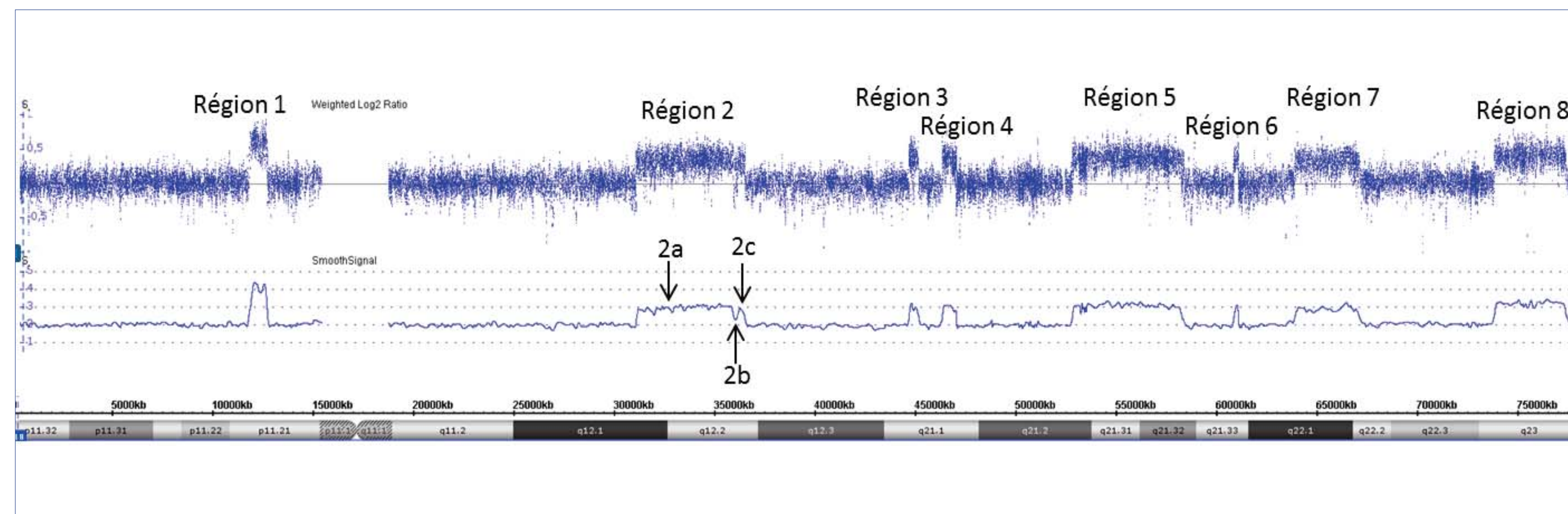
### Analyse du remaniement chromosomique

Le caryotype conventionnel retrouve un remaniement complexe d'un des chromosomes 18 (**Figure 2**). La complexité de ce remaniement ne permet pas une analyse précise en cytogénétique conventionnelle et une CGH array (puce à ADN pangénomique Affymetrix, CytoscanHD, résolution 40Kb) est réalisée (**Figure 3**). Celle-ci met en évidence un remaniement complexe d'un chromosome 18 avec sept régions sur le bras long dupliquées et une région sur le bras court tripliquée, résumé dans le **tableau 1**. La taille de ces régions varie de 200 Kb à 5Mb, avec, au total, approximativement 21 Mb de matériel chromosomique excédentaire. Les techniques de cytogénétique moléculaire utilisant des sondes BACs confirment et précisent ce remaniement. Un focus particulier est mis sur la région 2. L'utilisation de sondes Bac en cytogénétique moléculaire a permis de mettre en évidence un remaniement encore plus complexe comprenant 3 sous-régions : une région 2a dupliquée sur le bras court et sur le bras long, une région 2b non dupliquée et positionnée sur le bras court et une région 2c dupliquée et positionnée uniquement sur le bras long. Le caryotype maternel est normal. Le caryotype paternel n'a pas pu être réalisé. Le phénotype attendu est celui d'une trisomie 18 partielle.



**Figure 1.** Photographie du patient à 2 ans et demi: le visage est rond avec hypotonie faciale ; il existe un télécanthus et des fentes palpébrales orientées vers le bas ; les oreilles sont légèrement dysplasiques, basses implantées et en rotation postérieure.

**Figure 2.** Caryotype en cytogénétique conventionnelle (bandes RHG, résolution de 550 bandes par génome haploïde) : chromosome 18 présentant un remaniement complexe.



**Figure 3.** : Résultat de CGH array (puce Affymetrix) : Mise en évidence de 8 régions remaniées : une région tripliquée en 18p11.21 (smooth signal ≈ 4) et 7 régions dupliquées dans le bras long (smooth signal ≈ 3).

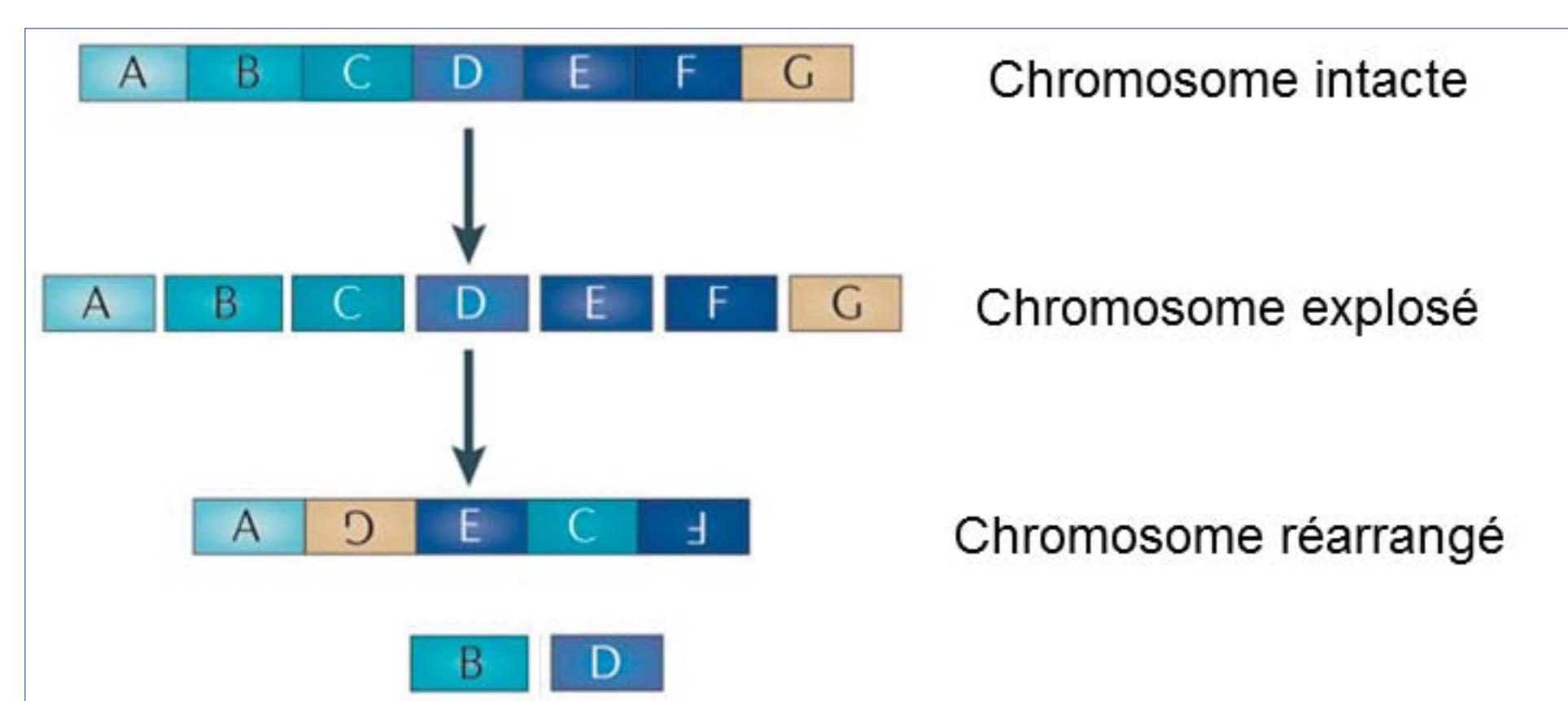
	Localisation	Taille	Remaniement CGH	Remaniement FISH
Région 1	p11.21 (11,585,369-12,482,080)	896 Kb	Triplication	Amplification du spot en 18p
Région 2	q12.1-q12.2 (30,852,180-36,260,132)	5 407 Kb	Duplication	3 sous-régions (QS texte)
Région 3	q21.1 (44,426,209-44,898,600)	472 Kb	Duplication	Duplication sur le bras long, à distance
Région 4	q21.1 (46,076,777-46,787,156)	710 Kb	Duplication	Duplication sur place
Région 5	q21.2-q21.32 (52,567,865-58,008,305)	5 440 Kb	Duplication	Duplication sur place
Région 6	q21.33 (60,595,227-60,819,311)	224 Kb	Duplication	Duplication sur place
Région 7	q22.1 (63,614,315-66,856,964)	3 242 Kb	Duplication	Duplication sur le bras court et le bras long
Région 8	q23 (73,554,500-77,125,545)	3 571 Kb	Duplication	Duplication sur place

**Tableau 1.** Synthèse du remaniement : CGH array et cytogénétique moléculaire (sondes BACs)

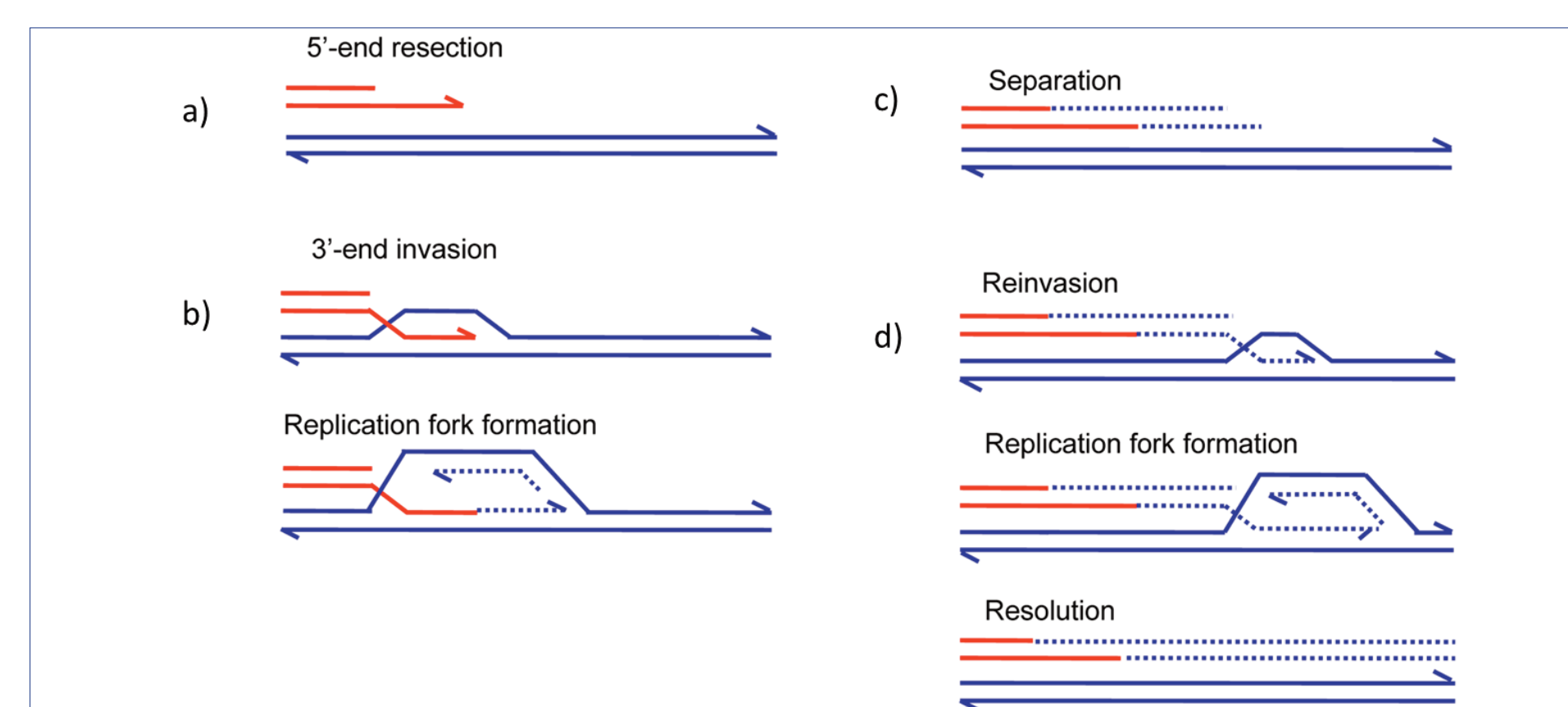
## MECANISME

Deux nouveaux mécanismes, inspirés de la cancérogénèse, ont été décrits afin d'expliquer des remaniements chromosomiques aussi complexes : le chromothripsis et le chromoanasythesis. Leur description est basée sur 3 remarques essentielles. Il s'agit d'un nombre important de remaniements 1) localisés dans une unique région chromosomique, 2) aboutissant à une faible variation du nombre de copies (entre 1 et 3 ou 4 copies) dans la région réarrangée, 3) qui présente une alternance de régions avec perte d'hétérozygotie et de régions avec conservation d'hétérozygotie. Au vue de ces observations, les auteurs supposent que le remaniement, aussi complexe soit-il, est causé par un événement unique, produit au cours d'un unique cycle cellulaire, touchant un unique domaine nucléaire impliquant généralement une région chromosomique unique ou plus rarement plusieurs régions chromosomiques situées à proximité dans l'organisation spatiale du noyau. Le chromothripsis (**Figure 4**) consiste en une explosion de la région chromosomique en de multiples fragments (cassures double-brins) et une recombinaison aléatoire de celle-ci par des jonctions non (ou peu) homologues des extrémités (NHEJ). Le chromoanasythesis aboutit alors à des inversions et des délétions multiples.

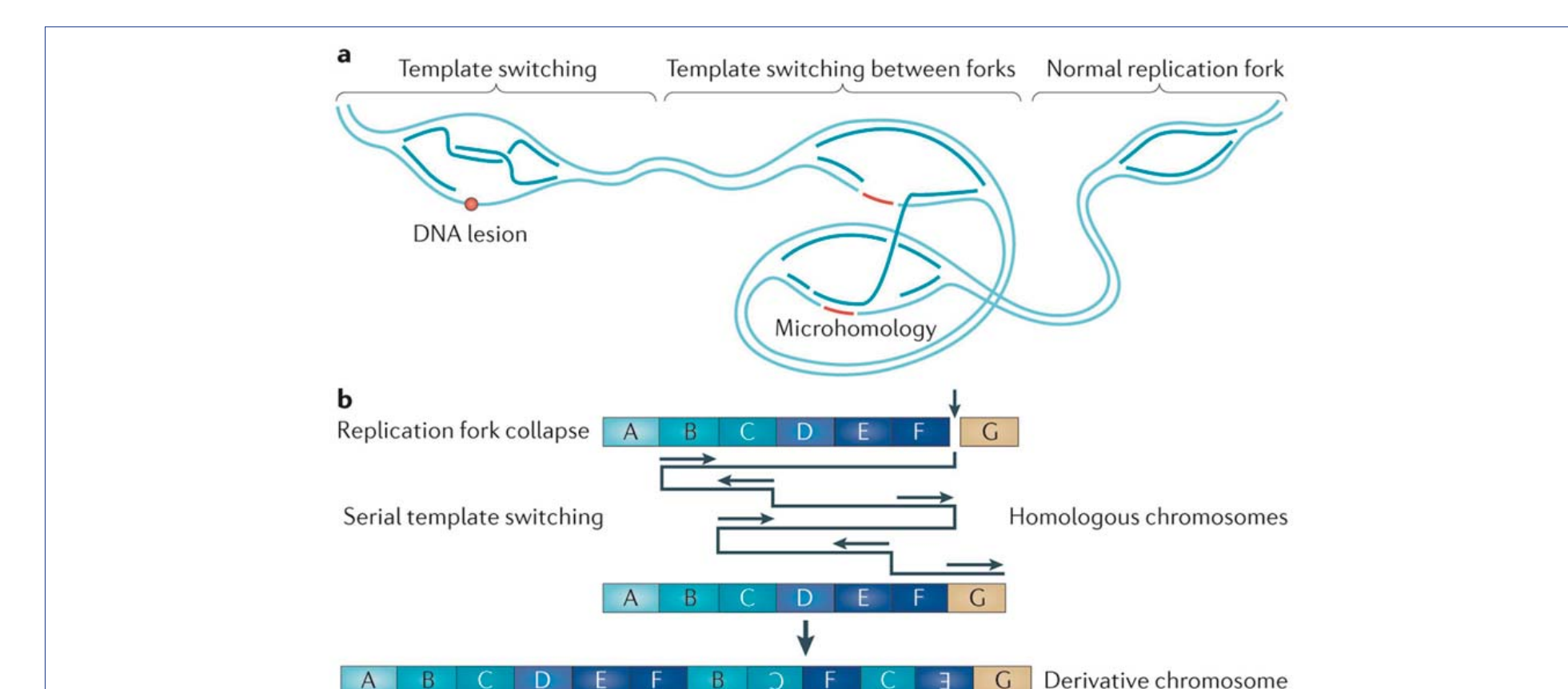
Le chromoanasythesis fait appel à un mécanisme de réparation par réplication impliquant de petites zones d'homologie de séquence : il s'agit du MMBIR (Microhomology-Mediated Break-Induced Replication). Le MMBIR est un mécanisme qui permet à la cellule de relancer la réplication après le blocage de la fourche de réplication par cassure d'un des brins matriciels. Ce processus utilise pour cela de nouvelles matrices d'ADN comportant des zones de micro-homologies avec l'extrémité 3' libre générée, pour créer de nouvelles boucles de réplication. Il peut y avoir plusieurs changements de matrice avant le retour au brin original (**Figure 5a**). Si ces micro-homologies sont dispersées le long d'une région chromosomique ou d'un chromosome, voire sur un autre chromosome, alors les réparations peuvent être aberrantes et générer tous les types de remaniements : délétion, duplication, triplication, inversion et translocation (**figure 5b**). Il est probable que le mécanisme du remaniement complexe de notre patient soit un chromoanasythesis. Le séquençage des points de cassure afin de mettre en évidence ces micro-homologies permettrait d'en apporter la preuve. Notre cas serait le second cas rapporté dans la littérature intéressant à la fois le bras court et le bras long du chromosome (Liu P et al, 2011).



**Figure 4** : Chromothripsis (Schéma inspiré de Forment JV et al, 2012)



**Figure 5a** : MMBIR (Schéma inspiré de Hasting PJ et al, 2009)  
a) Ce mécanisme débute par une cassure d'un des brins matriciels de la fourche de réplication aboutissant à la troncature d'une des 2 chromatides sœurs (chromatide A en rouge).  
b) L'extrémité 3' générée d'un des brins de la chromatide A va coloniser un ADN double-brin par l'intermédiaire d'une micro-homologie de séquence (ici la chromatide B en bleu) et former une fourche de réplication puis va étendre sa copie au sein de cette fourche de réplication au brin controlatéral de la chromatide B.  
c) L'extrémité du brin néoformé se lie ensuite avec l'extrémité cassée du brin controlatéral de la chromatide A (liaison Holliday). Le brin néo-formé se casse permettant ainsi de reconstituer un ADN double brin linéaire, copie exacte de l'ADN de la chromatide sœur.  
d) Le processus se répète, se poursuivant par une nouvelle invasion (ici encore de la chromatide sœur B) jusqu'à réparation complète.



**Figure 5b** : Chromoanasythesis (Schéma de Forment JV et al, 2012)  
a) Les anomalies de la réplication sont en règle réparées au sein même de la boucle de réplication. Cependant, des erreurs peuvent se produire entre différentes boucles de réplication présentant des micro-homologies de séquence.  
b) Le résultat de ces erreurs comprend de multiples remaniements de tout type.

## CONCLUSION

Il s'agit d'un patient présentant un retard psychomoteur et une dysmorphie crânio-faciale, en rapport avec une anomalie complexe du chromosome 18. Les techniques de cytogénétique moléculaire (puce à ADN) ont permis d'identifier la présence de remaniement génomique complexe sur toute la longueur du chromosome 18, à savoir sept duplications et une triplication. Le mécanisme évoqué est celui de chromoanasythesis, responsable de la formation de plusieurs types de remaniements (délétion, duplication, triplication, inversion, translocation,...). L'utilisation des nouvelles techniques de séquençage haut-débit pourront permettre d'aller plus loin dans la compréhension du mécanisme. La complexité de ce remaniement a pu être mise en évidence chez notre patient grâce à l'utilisation d'une puce à ADN hautement résolutive. Nul doute que l'utilisation de cette technique soit pour l'étude de remaniement chromosomique complexe ou de remaniements chromosomiques apparemment équilibrés à phénotype anormal, soit de première intention dans le cadre de retard mental syndromique ou non, permettra de mettre en évidence ce type de remaniement de façon plus fréquente que ne le laissait supposer les techniques de cytogénétique conventionnelle.

## BIBLIOGRAPHIE

Hastings PJ, Ira G, Lupski JR. A Microhomology-Mediated Break-Induced Replication model for the origin of human copy number variation. PLoS Genet 2009;5:e1000327.  
Forment JV, Kaidi A, Jackson SP. Chromothripsis and cancer: causes and consequences of chromosome shattering. Nat Rev Cancer 2012;12:663-70.  
Chen JM, Férec C, Cooper DN. Transient hypermutability, chromothripsis and replication-based mechanisms in the generation of concurrent clustered mutations. Mutat Res 2012;750:52-9.  
Liu P, Erez A, Nagamani SC, et al. Chromosome catastrophes involve replication mechanisms generating complex genomic rearrangements. Cell 2011;146:889-903.