



**DOUZIÈMES JOURNÉES DU COLLÈGE DES
HISTOLOGISTES, EMBRYOLOGISTES, CYTOLOGISTES ET
CYTOGÉNÉTICIENS**

TOURS

15, 16 ET 17 MARS 2007

ORGANISATEURS

**Professeur Dominique FELLMANN
(Besançon)**

**Docteur Jean BOUTONNAT
(Grenoble)**

dominique.fellmann@univ-fcomte.fr

jean.boutonnat@ujf-grenoble.fr

NOVOTEL – TOURS SUD
ZAC La Vrillonnerie, 37170 Chambray Lès Tours
Tel : 02 47 80 18 10
Mel : Ho453-SB@accor.com

MEMBRES PARTENAIRES

Le Collège Universitaire et hospitalier des Histologistes, Embryologistes, Cytologistes et Cytogénéticiens (CHEC) remercie les sociétés qui ont permis l'organisation de ses 12èmes journées



Abbott Molecular
12 rue de la Couture
94518 Rungis
Contact : Alain Bitbol
Alain.bitbol@abbott.com



DAKOCytomation SAS
Rue des Charmes
BP 149
78196 Trappes Cedex
Contact : Christophe Vergne
Christophe.vergne@dako.com



Nikon Instruments
191 Rue du Marché Rollay
94504 Champigny sur Marne
Contact : isabelle.dukan@nikon.fr



Olympus France
Département Bio-Industrie
Parc d'Affaires Silic
74 rue d'Arcueil BP 90165
94533 Rungis Cedex
Contact : Assia Hammouyat
Assia.oufquin@olympus.fr



Carl Zeiss SAS
60, route de Sartrouville
Boîte Postale 66
F-78231 Le Pecq
Contact : lissmyr@zeiss.fr

PROGRAMME

Jeudi 15 Mars

14H30 - 18H30 **Accueil des participants**

15H00 - 18H45 **Session I : Ateliers Pédagogiques et mise au point**
Modérateurs : Philippe Vago – Jean Boutonnat

15H00 -17H00 Formation des juniors à la pédagogie

17H00 - 17H45 Les nouvelles techniques de microscopie par
Damien Schoevaert, Paris

17H45 - 18H00 Pause

18H00 - 18H45 Nouvelles sources pour l'enseignement

18H00 - 18H15 Une banque d'images, Chantal Kohler, Nancy
18H15 - 18H30 UMVF

18H45 **Ouverture des journées par le Président du Collège**

19H00 -19H30 **Conférence :**
Morphogenèse et Canalisation par Michel Vekemans, Paris

19H45 Apéritif et dîner

Vendredi 16 Mars

8H30 - 12H30 **Session II : Enseignement**
Modérateurs : Daniel Seigneurin – Chantal Kohler

8H30 - 9H10 L'hypophyse par Jacqueline Trouillas, Lyon

9H20 – 10H00 Intervention des partenaires sponsors

10H00 – 10H30 Pause visite des stands

10H30 – 11H10 Le poumon par Jean-Francois Bernaudin, Paris

11H20 – 12H30 L'enseignement de la discipline
L'expérience Grenobloise en PCEM I,
Daniel Seigneurin – Jean Boutonnat, Grenoble

Projet d'ouvrage collectif d'Histologie par le Collège

12H30 -14H30 Déjeuner

14H30 – 17H00 Session III : Enseignement – Recherche

Modérateurs : Romain Ghérardi – Andréï Tchirkov

14H30-15H10 Construire le cerveau par Férechté Encha-Razavi, Paris

15H20 -17H00 Forum des Histologistes (communications scientifiques)

17H00 – 17H30 Pause, visite des stands

17H30 - 19H30 Assemblée générale du Collège (élection du bureau)

19H30 Apéritif et dîner

Samedi 18 Mars

9H-10H00 Session IV : Recherche

Modérateurs : Pierre Dubus – Frank Pellestor

9H – 9H45 Les cellules souches de la peau par le Pr Danielle Dhouailly, Grenoble

10H00 -11H00 Session V : Hôpital et Université

Modérateurs : André Defossez – Francis Roussel

10H -10H45 Les Histologistes et les Pôles Hospitaliers : Présentation par Daniel Seigneurin, Grenoble

11H00 -11H30 Nouvelles du CNU par le Président de la sous-section 42-02

11H30 – 12H00 Clôture des journées

12H00-12H15 Conclusion

RÉSUMÉS

LES NOUVELLES MICROSCOPIES, VERS UNE NANO-BIOPHOTONIQUE ?

Damien Schoëvaërt-Brossault

Depuis quelques décennies la microscopie optique connaît d'importantes innovations permettant une observation, toujours plus fine, des structures cellulaires et sub-cellulaires et de leur fonctionnement dans des conditions « quasi-physiologiques ». Ainsi l'amélioration de la résolution (spatiale et temporelle) permet aujourd'hui, la détection et le suivi de molécule unique « in vivo ».

La microscopie à fluorescence, dont le succès est dû à la spécificité (ciblage) et la sensibilité (rendement quantique) remarquable des fluorophores, connaît de multiples extensions avec le **FRET** (*Fluorescence Resonant Energie Transfert Microscopy*) qui permet l'étude de la co-localisation de deux macromolécules, de leur dynamique d'assemblage, et la détection du changement conformationnel de molécules uniques, avec le **FRAP** (*Fluorescence Recovery After Photobleaching*) qui permet d'accéder à la mobilité diffusionnelle des molécules, avec la microscopie **FLIM** (*Fluorescence Lifetime imaging microscopy*) particulièrement bien adaptée à la cellule vivante, avec et la technique **FAD** (*Fluorescence Anisotropy Decay*) qui permet la visualisation des interactions protéine-protéine...

La microscopie à balayage laser couplée à l'informatique est à l'origine de multiples innovations, telle que la **CLSM** (*Confocal Laser Scanning Microscope*) qui permet la visualisation tridimensionnelle à partir d'une Z-série de « coupes optiques », la **2PEF** (*2-Photons Fluorescence*), équipée d'un laser infrarouge pulsé (femtoseconde), qui permet l'observation en profondeur des tissus vivants. L'analyse en temps réel est aussi possible en démultipliant les points focaux **TRiMscope** (*Multifocal Multiphoton Microscopy*).

Une nouvelle étape a été franchie avec la microscopie non linéaire. La génération de seconde (**SHG**), ou de troisième harmonique (**THG**) obtenue avec des dipôles naturels ou synthétiques (harmonophores) permettant une visualisation de l'orientation moléculaires. L'obtention des signatures moléculaires endogènes par la **FTIRS** (*Fourier Transform Infra Red Spectroscopy*) grâce à la détection des phonons (quantum de vibration), permet une véritable cartographie moléculaire. La limite de résolution optique réputée infranchissable (barrière d'Abbé), est maintenant contournée par la microscopie à champ proche. Ainsi, l'exploration des champs évanescents par la microscopie **TIRF** (*Total Internal Fluorescence*) et la microscopie **NSOM** (*Near-field Scanning Optical Microscopy*) permet d'accroître la résolution d'un facteur 10.

Parallèlement aux progrès de la microscopie en champs lointains et proches, sont apparus, grâce aux nanotechnologies, de nouvelles générations de marqueurs (boîtes quantiques), permettant le suivi de molécules uniques. Les progrès des fibres optiques, des optiques adaptatives (micro-miroirs programmables), des capteurs, de l'analyse d'images contribuent à l'amélioration de la qualité de l'observation dans des conditions « intravitalles ».

Après une période de diversification, on assiste à la naissance de microscopies multimodales (associant **FRET** et **SHG**...), les signes d'une évolution vers une **métamicroscopie**, associant une multi-modalité d'observation (photonique et phonique) et

de rétroaction (pinces optiques) permettant un accès « in situ » aux propriétés structurales et fonctionnelles des composants cellulaires et moléculaires. Ainsi se dessinent les perspectives d'une nano-biophotonique, qui sans doute, contribuera grandement à une meilleure compréhension des mécanismes cellulaires.

ORIGINE DES CELLULES MICROGLIALES EN SITUATION NEURO-INFLAMMATOIRE.

Serge Nataf

INSERM U842, Faculté de Médecine Laennec, 07 rue Guillaume Paradin, 69003 Lyon

Dans plusieurs modèles de maladies neuro-inflammatoires, il a été démontré que la microglie était renouvelée de manière accélérée par des précurseurs sanguins dérivant de la moelle osseuse. L'identité de ces précurseurs et les mécanismes régissant leur mobilisation, leur migration puis leur différenciation sont inconnus. À la différence des autres macrophages tissulaires, les cellules microgliales résidentes présentent des caractéristiques de cellules myéloïdes immatures. Nous avons donc émis l'hypothèse que la microglie dérivait de progéniteurs myéloïdes circulants qui seraient capables de coloniser le système nerveux central (SNC). L'étude du modèle d'encéphalite allergique expérimentale, modèle auto-immun de sclérose en plaques (SEP), nous a permis de montrer qu'une sous-population de progéniteurs myéloïdes CD34+ infiltre le SNC inflammatoire. Cette sous-population présente également une augmentation significative de son taux sanguin circulant. Une telle mobilisation sanguine des progéniteurs CD34+ s'effectue préférentiellement durant la phase chronique de l'EAE et de manière concomitante à l'infiltration microgliale. Enfin, le transfert adoptif de progéniteurs myéloïdes CD34+ montre que ces cellules sont capables de coloniser le SNC inflammatoire et de s'y différencier en cellules microgliales. L'ensemble de ces résultats (Davoust et al., 2006) suggère que les progéniteurs myéloïdes CD34+ sont mobilisés en situation neuro-inflammatoire chronique et participent au renouvellement accéléré des cellules microgliales. L'analyse de prélèvements sanguins issus de patients SEP confirme l'existence d'une mobilisation sanguine des progéniteurs myéloïdes CD34+.

Davoust N, Vuailat C, Cavillon G, Domengot C, Malcus C, Jurdic P, Confavreux C, Belin MF and **Nataf S**. 2006. CD34+/B220+ myeloid progenitors target the inflamed brain and display differentiation potential toward microglia. *FASEB J*. 20:2081-92.

ETUDE DE L'HISTOGENESE DES NEURONES A MCH DANS L'HYPOTHALAMUS LATERAL DE RAT

Clotilde Amiot^{1,2}, Dominique Fellmann^{1,2}, Pierre-Yves Risold¹

¹ Université de Franche-Comté, EA 3922, Faculté de Médecine et de Pharmacie ; ² Service de Génétique, Histologie, Biologie du Développement et de la Reproduction, CHU Saint-Jacques ; Place Saint-Jacques, 25030 Besançon cedex

Pendant une période précoce de son développement, le système nerveux central (SNC) est caractérisé par l'apparition de segments transversaux organisés le long du tube nerveux, les neuromères (prosomères pour le diencephale), au sein desquels les progéniteurs neuronaux sont le siège de l'expression combinée et localisée de gènes spécifiques indispensables à la maturation des structures ou de certaines populations neuronales.

Nos travaux ont concerné l'hypothalamus latéral, où sont localisés les neurones producteurs de l'hormone de mélanocortine (MCH). Chez les mammifères, la MCH est un

neurotransmetteur et/ou neuromodulateur auquel de nombreuses fonctions ont été attribuées, notamment dans la coordination des comportements instinctifs de prise alimentaire et de reproduction, la participation à l'intégration de processus complexes associés aux réponses émotionnelles, à la cognition et à l'activation générale corticale. Des observations précédentes ont permis de décrire une région appelée « zone à MCH », caractérisée par la distribution des péricaryons MCH entre deux tractus hypothalamiques majeurs de fibres myéliniques.

Comme les neurones à MCH apparaissent précocement au cours du développement, nous avons utilisé une approche ontogénétique, afin de mieux comprendre la signification anatomique de la distribution des neurones à MCH qui évoque certains aspects de la théorie neuromérique dans le diencephale. Cette étude visait à analyser les profils d'expression de cinq gènes du développement préalablement utilisés pour l'identification de segments prosomériques diencephaliques aux stades précoces (Pax6, Nkx2.1, Nkx2.2, Dlx et Olf1) et, de les comparer à la distribution des neurones à MCH ainsi qu'aux premiers tractus de fibres.

Par immunohistochimie et hybridation *in situ*, nous avons pu confirmer que la « zone à MCH » naît et se différencie dans un territoire caractérisé par l'expression d'une combinaison spécifique de facteurs de transcription. Ainsi dès la naissance des premières cellules du manteau, au moins trois des gènes étudiés sont clairement exprimés dans ce territoire : il s'agit de Nkx2.1, Nkx2.2 et Dlx. Récemment par hybridation *in situ*, nous avons également observé au 15^{ème} jour de vie embryonnaire, une zone d'expression d'un gène de la famille des LIM (Lhx9) dans les régions proximales du manteau de l'hypothalamus correspondant à la fois à la zone Nkx2.2, Nkx2.1 et Dlx positive et à la « zone à MCH ». Par ailleurs, nous supposons l'existence d'un effet répressif, direct ou indirect, du gène Pax6. En effet chez les souris homozygotes Pax6^{-/-}, le gène MCH est exprimé de façon ectopique dans les aires du thalamus ventral. La « zone à MCH » est également adjacente au premier tractus longitudinal du diencephale ou *tractus post-opticus*, issu de neurones de la région rétrochiasmatic.

La poursuite de ces travaux doit nous permettre d'accéder à une meilleure compréhension de l'organisation anatomique et fonctionnelle de l'hypothalamus chez les mammifères. Les travaux futurs auront pour objectif de rechercher d'autres facteurs de transcription et voies de signalisation susceptibles d'intervenir dans ces interactions, d'identifier l'effet de l'invalidation de certains de ces gènes sur la morphogenèse du diencephale et d'accéder à une meilleure compréhension des mécanismes de migration cellulaire et de croissance axonale aboutissant à la formation de l'hypothalamus postérieur.

MUSCLE SATELLITE CELLS AND ENDOTHELIAL CELLS: CLOSE NEIGHBOURS AND PRIVILEGED PARTNERS.

Christo Christov^{1,2,3}, Fabrice Chrétien^{1,2,4}, Rana Abou Khalil², Guillaume Bassez², Grégoire Vallet², François-Jérôme Authier², Yann Bassaglia², Vasily Shinin⁴, Shahragim Tajbakhsh⁴, Bénédicte Chazaud², Romain K. Gherardi^{2,3}

¹ *Equal contribution* ; ² *"Cellular interactions in the nervous and muscular system" INSERM, E0011, Université Paris XII-Val de Marne, Service d'Histologie, Département de Pathologie, Hôpital Henri Mondor, AP-HP, Créteil* ; ³ *"PICTURES" cell and tissue imaging unit of Institut Mondor de Médecine Moléculaire, IFR 10, Créteil* ; ⁴ *"Stem cells and Development", Department of Developmental Biology, Pasteur Institute, Paris, France*

Genetically engineered mice (Myf5nLacZ/+, Myf5GFP-P/+) allowing direct muscle satellite cell (SC) visualization indicate that, in addition to being located beneath myofiber basal laminae, SCs are strikingly close to capillaries. After GFP+ bone marrow transplantation, blood-borne cells occupying SC niches previously depleted by irradiation, were similarly detected near vessels, thereby corroborating the anatomic stability of juxtavascular SC niches.

BrdU pulse-chase experiments also localise quiescent and less quiescent SCs near vessels. SCs, and to a lesser extent myonuclei, were non-randomly associated with capillaries in humans. Significantly, they were correlated with capillarisation of myofibers, regardless to their type, in normal muscle. They also varied in paradigmatic physiologic and pathologic situations associated with variations of capillary density, including amyopathic dermatomyositis, a unique condition in which muscle capillary loss occurs without myofiber damage, and in athletes, in whom capillaries increase in number. Endothelial cell (EC) cultures specifically enhanced SC growth, through IGF-1, HGF, bFGF, PDGF-BB and VEGF, and, accordingly, cycling SCs remained mainly juxtavascular. Conversely, differentiating myogenic cells were both proangiogenic *in vitro* and spatiotemporally associated with neoangiogenesis in muscular dystrophy. Thus, SCs are largely juxtavascular and reciprocally interact with ECs during differentiation to support angio-myogenesis.

LES CHIMÈRES : A PROPOS D'UNE OBSERVATION PRÉNATALE

V. Malan¹, R. Gesny², N. Morichon-Delvallez¹, M.C. Aubry³, A. Benachi³, D. Sanlaville¹, C. Turleau¹, J.P. Bonnefont², C. Fekete-Nihoul⁴, M. Vekemans¹

¹Service d'Histologie Embryologie et Cytogénétique ; ²Service de Génétique Moléculaire ; ³Service de Gynécologie Obstétrique ; ⁴Service de Chirurgie Viscérale, Hôpital Necker Enfants Malades

Le chimérisme résulte de la fusion de deux zygotes différents en un seul embryon, contrairement au mosaïcisme qui traduit une erreur mitotique lors des premières divisions du zygote. Le spectre phénotypique des patients chimères 46,XX/46,XY est variable. En particulier, les organes génitaux externes peuvent être normaux masculins, normaux féminins ou présenter divers degrés d'ambiguïté.

Nous présentons ici un nouveau cas de chimère 46,XX/46,XY diagnostiquée fortuitement sur cellules amniotiques à 17 semaines de grossesse lors de la réalisation d'un caryotype foetal pour âge maternel avancé. L'échographie morphologique foetale a montré des organes génitaux externes féminins normaux et la grossesse s'est poursuivie avec la naissance à terme d'une petite fille normale.

Plusieurs mécanismes à l'origine des chimères sont décrits dans la littérature. En utilisant des marqueurs polymorphiques étagés sur le chromosome X et plusieurs autosomes nous avons tenté de préciser le mécanisme génétique intéressé dans notre observation. Une mosaïque a été exclue par la mise en évidence de 3 allèles à 11 loci autosomiques et à 4 loci sur le chromosome X. Sur les autosomes, le 3^{ème} allèle était d'origine maternelle pour deux marqueurs péricentromériques (situés en 2p11.2 et 8p11.2), paternelle pour 6 marqueurs et, maternelle ou paternelle pour les 3 autres marqueurs. Sur le chromosome X, le 3^{ème} allèle était d'origine maternelle pour les 4 marqueurs. Ainsi, deux différents lots haploïdes paternels et maternels ont été observés. Ces résultats sont compatibles avec une chimère tétragamétique.

PROFIL D'EXPRESSION DES ACTEURS DU SIGNAL RETINOÏQUE ET RECHERCHE DE DESEQUILIBRE GENOMIQUE CHEZ DES FŒTUS PORTEURS DE HERNIES DIAPHRAGMATIQUES CONGÉNITALES (HDC)

C. Goumy^{1,3}, G. Marceau^{2,3}, D. Galot^{3,4}, C. Benier¹, D. Lemery^{3,4}, V. Sapin^{2,3}, P. Vago^{1,3}

¹ Univ Clermont1, UFR Médecine, CHU Clermont-Ferrand, Service de Cytogénétique Médicale ; ² Univ Clermont1, UFR Médecine, INSERM U384, Service de Biochimie ; ³ Univ

Clermont1, UFR Médecine, JE 2447, ARDEMO ; ⁴ CHU Clermont-Ferrand, Service de Gynécologie Obstétrique

Introduction : Les hernies diaphragmatiques (1/2500 naissances) sont responsables de décès *in utero* ou néonatal (30 à 60% de mortalité). L'implication des rétinoïdes dans la genèse des HDC a été montrée à plusieurs reprises, sans que les mécanismes moléculaires soient encore bien connus.

But et méthode : Afin d'établir un modèle d'implication des rétinoïdes dans la HDC chez le fœtus, nous avons réalisé un profil d'expression des acteurs du signal rétinoïque dans des fibroblastes cutanés de fœtus témoins (4) et de fœtus porteurs d'une HDC avec ou sans anomalie chromosomique (15). La présence des transcrits codants pour les acteurs du signal rétinoïque (récepteurs, enzymes du catabolisme, protéine liaison) et des protéines correspondantes a été recherchée par RT-PCR et immunocytologie.

Nous avons par ailleurs recherché chez 5 fœtus porteurs de HDC à caryotype normal d'éventuels déséquilibres génomiques de petite taille par Hybridation Génomique Comparative sur puces (CGH array).

Une revue de la littérature sur les anomalies chromosomiques associées à des HDC nous a permis d'identifier au moins 3 gènes candidats (MEF2A, NR2F2 et CHD2) localisés dans les régions 8p23.1 et 15q26. Le gène NR2F2 (ou COUP-TFII) est un excellent candidat puisqu'il est impliqué dans le métabolisme des rétinoïdes. A l'aide de BAC judicieusement choisis, nous recherchons d'éventuelles microdélétions de ces gènes.

Résultats : Les récepteurs RAR α , β et γ et RXR α sont exprimés dans les fibroblastes des fœtus témoins et porteurs de HDC alors que les RXR β et γ ne le sont pas. Les profils protéiques confirment ces résultats. Pour les enzymes du métabolisme des rétinoïdes et les protéines de liaison, les différents acteurs sont présents dans les fibroblastes fœtaux. Les profils sont comparables chez les témoins et chez les fœtus avec HDC.

Aucun microremaniement n'a été mis en évidence à ce jour par les techniques de CGH-array et de FISH chez les 5 fœtus avec HDC et caryotype normal. Nous continuons ces investigations de façon prospective.

Conclusion : Les fibroblastes fœtaux sont donc un bon modèle pour l'étude du métabolisme des rétinoïdes puisque tous les acteurs du signal sont présents. Les HDC des 5 fœtus explorés à ce jour ne sont pas liées à l'absence d'acteurs du métabolisme des rétinoïdes ni à une microdélétion des gènes explorés.

CONFIRMATION D'UNE ASSOCIATION GENETIQUE ENTRE DES POLYMORPHISMES DE CANAUX IONIQUES CARDIAQUES ET LA LONGUEUR DE L'INTERVALLE QTC CHEZ DES SUJETS SAINS

L. Gouas^{1,2}, V. Nicaud³, S. Chaouch¹, M. Berthet¹, A. Forhan⁴, L. Tiret³, B. Balkau⁴, P. Guicheney^{1,5} and the D.E.S.I.R. Study Group

¹ INSERM, U582, Institut de Myologie et Université Pierre et Marie Curie-Paris6, UMR S582, IFR14, Paris ; ² Univ Clermont1, UFR Médecine, CHU Clermont-Ferrand, Service de Cytogénétique Médicale (Prof. P. Vago) ; ³ INSERM U525, IFR 14, UPMC, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris ; ⁴ INSERM U780, IFR 69, Villejuif ; ⁵ AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Service de Biochimie ; lgouas@chu-clermontferrand.fr

Introduction : Des études génétiques ont montré l'existence d'une association génétique entre des polymorphismes de sous-unités de canaux ioniques cardiaques et la longueur de l'intervalle QT à l'électrocardiogramme, corrigée sur la fréquence cardiaque (QTc), dans des

populations saines d'origine caucasienne (rs1805123 A/C (K897T) et rs3815459 G/A dans le gène *KCNH2*, rs1805126 C/T (D1819D), IVS9-3 C/A, rs1805124 A/G (H558R), et IVS24+116 G/A dans le gène *SCN5A*, rs757092 A/G dans le gène *KCNQ1*, IVS2-128 G/A et rs1805127 G/A (G38S) dans le gène *KCNE1*, et rs2234916 A/G (T8A) dans le gène *KCNE2*). Peu de ces associations ont été répliquées dans des populations indépendantes et notre étude a pour objectif de tester l'association génétique entre certains de ces polymorphismes et la longueur de l'intervalle QTc chez des sujets sains de la population française.

Méthodes : Les polymorphismes rs757092 A/G de *KCNQ1*, rs3815459 G/A de *KCNH2*, IVS24+116 G/A de *SCN5A*, IVS2-128 G/A de *KCNE1* et rs2234916 A/G de *KCNE2* ont été génotypés par F.R.E.T. ou par séquençage chez 200 sujets présentant les intervalles QTc les plus courts (333-365 ms) et 200 sujets présentant les intervalles QTc les plus longs (394-433 ms) d'une cohorte de 2008 assurés sociaux sains participant à l'étude prospective D.E.S.I.R. (Données Epidémiologiques sur le Syndrome de l'Insulino-Résistance).

Résultats : Les cinq polymorphismes étudiés étaient en équilibre de Hardy-Weinberg dans les deux groupes de sujets. L'allèle mineur A du polymorphisme *SCN5A* IVS24+116 était plus fréquent dans le groupe de sujets présentant les intervalles QTc les plus courts que dans le groupe présentant les intervalles QTc les plus longs ($f(A)=0.162$ vs $f(A)=0.104$, respectivement), tandis que les allèles mineurs G et A des polymorphismes *KCNQ1* rs757092 et *KCNH2* rs3815459, respectivement, étaient plus fréquents dans le groupe de sujets présentant les intervalles QTc les plus longs que dans le groupe présentant les intervalles QTc les plus courts ($f(G)=0.397$ vs $f(G)=0.312$ pour *KCNQ1* rs757092, $f(A)=0.240$ vs $f(A)=0.172$ pour *KCNH2* rs3815459, respectivement). Il n'y avait aucune différence de fréquence allélique entre les deux groupes pour les polymorphismes *KCNE1* IVS2-128 G/A et *KCNE2* rs2234916 A/G.

Conclusion : Notre étude confirme l'existence, chez des sujets sains d'origine caucasienne, d'une association génétique entre les polymorphismes *KCNQ1* rs757092 A/G, *KCNH2* rs3815459 G/A et *SCN5A* IVS24+116 G/A et la durée de l'intervalle QTc. Ces polymorphismes pourraient moduler, chez des patients atteints d'une pathologie primaire de la repolarisation ventriculaire cardiaque tels que les syndromes du QT long et du QT court, le risque d'arythmies.

ETUDE DE LA VALEUR PRONOSTIQUE DE L'EXPRESSION DE MYELOID-CELL-LEUKEMIA-1 (Mcl-1) DANS LA LEUCEMIE LYMPHOÏDE CHRONIQUE (LLC)

L. Véronèse^{1,3}, O. Tournilhac², P. Verrelle^{3,4}, A. Michel⁵, F. Davi⁵, Y. Vasconcellos^{6,7}, G. Dighiero⁶, C. Goumy¹, P. Vago¹, P. Travade² & A. Tchirkov^{1,3,4}

¹ Univ Clermont1, UFR Médecine, CHU Clermont-Ferrand, Service de Cytogénétique Médicale ; ² CHU Clermont-Ferrand, Service d'Hématologie Clinique ; ³ Centre Jean Perrin, Univ Clermont1, UFR Médecine, EA 3846 ; ⁴ Centre Jean Perrin, Département de Radiothérapie ; ⁵ Hôpital Pitié-Salpêtrière, Département d'Hématologie ; ⁶ Institut Pasteur, Unité d'Immuno-Hématologie et d'Immunopathologie, Paris ; ⁷ Universidade Federal de São Paulo, Division of Hematology, Brazil ; lauren_veronese@yahoo.fr

But de l'étude : Les classifications anatomo-cliniques isolent bien les formes graves de la LLC mais ne prédisent pas de l'évolution à un stade précoce, d'où la nécessité de rechercher des marqueurs moléculaires permettant d'identifier les LLC précoces à haut risque de progression. L'objectif de notre étude est d'évaluer la valeur pronostique de l'expression du gène anti-apoptotique Mcl-1 qui code pour un facteur de survie impliqué dans la résistance à l'apoptose des lymphocytes de LLC.

Matériels et Méthodes : Nous avons quantifié le niveau de l'expression de Mcl-1 par RT-PCR quantitative en temps réel dans les lymphocytes sanguins de 115 patients atteints de LLC. Les résultats ont été corrélés aux stades de Binet, à la survie des patients et aux facteurs de pronostic de référence dont le statut mutationnel des gènes des chaînes lourdes des immunoglobulines (IgV).

Résultats : L'expression de Mcl-1 est plus forte parmi les patients de pronostic défavorables exprimant la thymidine kinase ($p=0,055$) ou présentant une forme avancée de LLC (stade B/C selon Binet) ($p=0,068$), mais on ne retrouve pas de corrélation avec d'autres marqueurs du pronostic comme le statut mutationnel des IgV, le temps de doublement de la lymphocytose, le taux de $\beta 2$ microglobuline, l'expression de CD38 et l'expression de la sous-unité catalytique de la télomérase. Les patients exprimant fortement Mcl-1 ($Mcl-1 > 50$) ont une survie significativement plus courte que les patients exprimant faiblement Mcl-1 ($Mcl-1 \leq 50$) aussi bien parmi les patients tous stades confondus ($p=0,027$) que parmi les stades A ($p=0,026$). En analyse multivariée selon le modèle de Cox, l'expression de Mcl-1 apparaît comme un facteur de pronostic indépendant.

Conclusion : L'étude de l'expression de Mcl-1 permet d'identifier précocement les formes de LLC à haut risque d'évolution défavorable et constitue à ce titre un marqueur du pronostic.

ETUDE DES REGIONS SUB-TELOMERIQUES PAR MLPA CHEZ 1041 PATIENTS PRESENTANT UN RETARD MENTAL (RM) NON SPECIFIQUE

A. Delahaye, A. Aboura, J. Rousseau, B. Benzacken, J. Elion, A. Verloes, S. Drunat.

Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, AP-HP, Paris, France.

Objectifs : La revue des cas publiés réalisée en 2003 par de Vries estime que 5% des patients présentant un RM sont porteurs d'une anomalie subtélomérique. La majorité des études rapportées ont été réalisées sur des populations de patients hautement sélectionnés cliniquement en raison de la lourdeur et du coût des techniques FISH commercialisées. Les objectifs de ce travail sont d'établir la fréquence des microremaniements subtélomériques dans une large population de patients présentant un RM et d'affiner la description des phénotypes associés à chaque microremaniement. **Méthodes** : nous avons développé une stratégie de dépistage systématique des anomalies subtélomériques par une technique de PCR quantitative par MLPA (*multiplex ligation dependent probe amplification*). Une confirmation de l'anomalie retrouvée par un second panel de sondes MLPA, puis par FISH subtélomérique a été réalisée secondairement. Cette stratégie a été appliquée à une population de 1041 patients présentant un RM de tout niveau, en s'affranchissant des critères de présélection cliniques publiés qui ne nous semblaient pas satisfaisants. **Résultats** : un réarrangement subtélomérique a été mis en évidence par MLPA et confirmé par FISH chez 28 patients (soit 2,7%). Des corrélations entre le phénotype et le remaniement détecté intégrant les données cliniques de la littérature aux observations issues de nos patients ont été réalisées. La mise en évidence de faux positifs en MLPA et de polymorphismes nous on conduit à développer des techniques complémentaires (sondes FISH locales, PCR quantitative en temps réel **Conclusion** : le pourcentage de patients présentant un réarrangement subtélomérique est comparable aux données de la littérature réalisées avec d'autres techniques. La forte sensibilité et le faible coût de la MLPA associés à la nécessité de confirmer les résultats en font une méthode à privilégier pour le dépistage des anomalies subtélomériques dans une large population de patients présentant un retard mental non spécifique.

LISTE DES PARTICIPANTS (5 MARS 2007)

ACHARD	VINCENT	MARSEILLE
AMICE	JEAN	BREST
AMIOT	CLOTILDE	BESANÇON
AUTHIER	FRANCOIS-JEROME	CRETEIL
BASLE	MICHEL	ANGERS
BASSEZ	GUILLAUME	CRETEIL
BAVEREL	FRANÇOISE	PARIS
BELAUD-ROTUREAU	MARC ANTOINE	BORDEAUX
BENZACKEN	BRIGITTE	BONDY
BERNAUDIN	J. FRANÇOIS	PARIS
BES	JEAN-CLAUDE	TOULOUSE
BLOCH	BERTRAND	BORDEAUX
BOUDARD	DELPHINE	ST ÉTIENNE
BOURTHOUMIEU	SYLVIE	LIMOGES
BOUTONNAT	JEAN	GRENOBLE
CARLOTTI	MARTINA	BORDEAUX
CAUDROY	STEPHANIE	REIMS
CHAPPARD	DANIEL	ANGERS
CHRETIEN	FABRICE	CRETEIL
CHRISTOV	CHRISTO	CRETEIL
COTTIER	MICHÈLE	ST ÉTIENNE
COUDERC	BADIA	BORDEAUX
COURTADE-SAIDI	MONIQUE	TOULOUSE
DEFOSSEZ	ANDRÉ	LILLE
DELAHAYE-DURIEZ	ANDRÉE	PARIS
DUBUS	PIERRE	BORDEAUX
DUPONT	J MICHEL	PARIS
FELLMANN	DOMINIQUE	BESANÇON
FOLIGUET	BERNARD	NANCY
GHERARDI	ROMAIN	CRETEIL
GOUAS	LAETITIA	CLERMONT-FERRAND
GOUMY	CAROLE	CLERMONT-FERRAND
GRILLO	J MARIE	MARSEILLE
HEYMANN	DOMINIQUE	NANTES
JOZAN	SUZANNE	TOULOUSE
KOHLER	CHANTAL	NANCY
LACOSTE-COLLIN	LAETITIA	TOULOUSE
LACROIX	ODILE	MARSEILLE
LANDEMORE	GÉRARD	CAEN
LAVABRE-BERTRAND	THIERRY	NIMES
LE CALVÉ	MICHÈLE	RENNES
LEBBAR	AZIZA	PARIS
LECHAPT	EMMANUELLE	CAEN

LEPREUX	SÉBASTIEN	BORDEAUX
LEROY-MARTIN	BRIGITTE	LILLE
MACE	BERTRAND	ROUEN
MALAN	VALÉRIE	PARIS
MARQUES	BERNARD	TOULOUSE
MARTIN NEGRIER	MARIE-LAURE	BORDEAUX
MARTIN-PONT	BRIGITTE	PARIS
MAURAGE	CLAUDE-ALAIN	LILLE
MERLIO	J PHILIPPE	BORDEAUX
MOREAU	MARIE FRANCOISE	ANGERS
NATAF	SERGE	LYON
PAULIN	CHRISTIAN	LYON
PELLESTOR	FRANCK	MONTPELLIER
PELLUARD	FANNY	BORDEAUX
PERISSEL	BERNARD	CLERMONT-FERRAND
PIPIRAS	EVA	BONDY
POIROT	CATHERINE	PARIS
PROST	CATHERINE	BOBIGNY
RAVEL	CÉLIA	PARIS
ROMANA	SERGE (PIERRICK)	PARIS
ROUSSEL	FRANCIS	ROUEN
SAM-GIAO	MARC	TOURS
SCHOEVAERT- BROSSAULT	DAMIEN	PARIS
SEIGNEURIN	DANIEL	GRENOBLE
SIFFROI	JEAN-PIERRE	PARIS
TCHIRKOV	ANDREI	CLERMONT-FERRAND
TRAN VAN NHIEU	JEANNE	PARIS
TROUETTE	HÉLÈNE	BORDEAUX
TROUILLAS	JACQUELINE	LYON
VAGO	PHILIPPE	CLERMONT-FERRAND
VAXMAN	MARTINE	STRASBOURG
VEKEMANS	MICHEL	PARIS
VERONESE	LAUREN	CLERMONT-FERRAND
WOLF	JEAN-PHILIPPE	PARIS
YARDIN	CATHERINE	LIMOGES
ZIYYAT	AHMED	PARIS