

Diagnostic des anomalies chromosomiques en pathologie constitutionnelle

V. Malan, S. Romana

La cytogénétique humaine est une discipline récente puisque le nombre de chromosomes n'a été correctement établi qu'en 1956. Trois ans plus tard, la première anomalie chromosomique liée à une pathologie humaine, la trisomie 21, fut décrite. L'établissement du caryotype a ensuite permis la description de nombreuses anomalies chromosomiques, aussi bien de nombre que de structure, associées à des syndromes cliniques. Le caryotype a été pendant longtemps le seul examen permettant une étude globale du génome, mais avec un niveau de résolution limité de l'ordre de 5 à 10 Mb. Dans les années 1980 s'est développée la cytogénétique moléculaire avec l'introduction de la fluorescence in situ hybridization (FISH). Cette technique offre un niveau de résolution largement supérieur au caryotype (de l'ordre de 30 à 150 kb selon les sondes utilisées) et permet de s'affranchir de la culture cellulaire : des anomalies chromosomiques peuvent être détectées sur noyaux interphasiques. Cependant, elle ne permet qu'une étude ciblée du génome : une orientation cytogénétique ou clinique est nécessaire pour choisir la sonde à utiliser afin d'établir le diagnostic. Enfin, vers les années 2000 sont apparues les techniques de comparative genomic hybridization (CGH) array et de single nucleotide polymorphism array (SNP) appelées analyses chromosomiques sur puce à ADN (ACPA) qui ont bouleversé la discipline en dépassant les limites du caryotype et de la FISH. En effet, le génome est analysé dans son ensemble avec un haut niveau de résolution (jusqu'à moins de 1000 paires de bases selon les puces utilisées). L'application de cette technique en postnatal a conduit à la mise en évidence d'environ 12 % d'anomalies chromosomiques cryptiques chez les patients présentant un déficit intellectuel et/ou des malformations congénitales. L'ACPA a permis un véritable saut qualitatif et est donc devenue l'examen de première intention à la place du caryotype dans le bilan étiologique de ces patients.

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots-clés : Caryotype ; FISH (fluorescence in situ hybridization) ; ACPA (analyses chromosomiques sur puce à ADN) ; CGH array (comparative genomic hybridization) ; CNV (copy number variant) ; Malformations congénitales ; Déficit intellectuel

Plan

■ Introduction	1
Généralités sur l'acide désoxyribonucléique et les chromosomes	1
Anomalies chromosomiques	2
■ Méthodes d'analyse du génome	2
Caryotype	2
Cytogénétique moléculaire	3
■ Conclusion	7

■ Introduction

Généralités sur l'acide désoxyribonucléique et les chromosomes

Le génome correspond à l'ensemble du matériel génétique des êtres vivants. Il est composé majoritairement d'acide désoxyribonucléique (ADN) complexé à des protéines basiques, les histones.

L'ADN est une molécule bicaténaire dont les deux brins, enroulés en hélice, sont composés d'un squelette d'acide phosphorique et de désoxyribose liés à des bases phosphorées au nombre de quatre : l'adénine, la thymine, la guanine et la cytosine. Ces brins sont appariés grâce à l'existence de liaisons hydrogènes spécifiques entre les paires de bases suivantes : adénine-guanine et cytosine-thymine. La succession de ces bases le long de la molécule d'ADN s'appelle la séquence de l'ADN.

Le nombre de molécules d'ADN est spécifique du génome de chaque espèce. Celui de l'homme comporte 23 paires de molécules d'ADN (soit 46 molécules d'ADN) résultant de la fusion des génomes des gamètes (ovule et spermatozoïde) au moment de la fécondation. Au cours de la division cellulaire (mitose), les molécules d'ADN se condensent et apparaissent sous forme de chromosomes (corps colorés). La taille du génome d'un gamète humain (génome dit haploïde) est de trois milliards de paires de bases (on dit paires de bases, car l'ADN est bicaténaire) ou 3000 mégabases (une mégabase ou 1 Mb est égale à un million de paires de bases ; un kilobase ou 1 kb est égal à 1000 paires de bases). Les chromosomes n'ont pas la même taille. La longueur du plus grand chromosome humain, le chromosome 1, est

de 249 250 621 paires de bases ou 249 Mb. Le plus petit, le chromosome 21, contient 48 129 895 paires de bases, soit 48 Mb. La séquence du génome humain et celle de nombreuses espèces sont maintenant totalement décryptées. Le génome haploïde humain contient environ 20 000 gènes dont la taille moyenne est de l'ordre de 30 kb. Les gènes représentent moins de 5 % du génome. Le reste est constitué à 45 % de séquences répétées et à 50 % de séquences uniques non codantes mais pouvant contenir des éléments régulateurs de l'expression génique.

Au cours du cycle cellulaire, des anomalies de la structure ou du nombre des chromosomes peuvent survenir. Par des mécanismes de surveillance appelés *check points* ou « points de contrôle », la cellule peut réparer les lésions de l'ADN ou orienter une cellule dont l'atteinte génomique est trop importante vers une mort dite programmée ou apoptose. Certaines lésions échappent néanmoins à ces mécanismes et engendrent alors des anomalies chromosomiques.

Anomalies chromosomiques

En pathologie constitutionnelle, à la différence des anomalies géniques qui sont des atteintes qualitatives des gènes (c'est-à-dire des mutations), les anomalies chromosomiques peuvent correspondre soit à une anomalie de nombre des chromosomes (ou aneuploïdies), soit à des remaniements de segments chromosomiques, comprenant le plus souvent de nombreux gènes. On parle dans ce cas d'anomalies de structure des chromosomes.

Lorsqu'une anomalie chromosomique se produit lors de la méiose, toutes les cellules du zygote sont porteuses de l'anomalie, car celle-ci est survenue avant la fécondation : l'anomalie chromosomique est homogène (c'est-à-dire présente dans toutes les cellules). En revanche, si l'anomalie se produit lors des divisions mitotiques du zygote, c'est-à-dire après la fécondation, l'anomalie est présente en mosaïque (toutes les cellules ne seront pas porteuses de l'anomalie). On parle dans ce cas d'« accident post-zygotique ».

Anomalies chromosomiques de nombre (ou aneuploïdies)

Les anomalies chromosomiques de nombre des chromosomes sont liées à des anomalies de la ségrégation des chromosomes lors de la mitose ou de la méiose. La plupart d'entre elles sont délétères pour la vie de l'embryon et du fœtus, et génèrent des avortements précoces ou des morts fœtales in utero. Elles résultent le plus souvent d'une non-disjonction méiotique et peuvent se traduire par une trisomie (présence d'un chromosome normal surnuméraire) ou une monosomie (perte d'un chromosome normal).

Les aneuploïdies les plus fréquentes à la naissance sont les trisomies 21, 18 et 13, et celles impliquant les gonosomes (X et Y). Les monosomies autosomiques (c'est-à-dire impliquant les chromosomes de 1 à 22) provoquent pratiquement constamment des fausses couches précoces. Seule la monosomie X associée au syndrome de Turner est viable.

Anomalies chromosomiques de structure

Dans ce cas, le nombre de chromosomes dans le noyau de la cellule est normal, mais la structure d'un ou plusieurs chromosome(s) est altérée. Le remaniement chromosomique peut être équilibré ou non équilibré (c'est-à-dire déséquilibré).

Anomalies chromosomiques équilibrées

Un remaniement chromosomique est dit équilibré lorsqu'il n'y a ni perte ni gain de matériel chromosomique. Ceci signifie qu'un ou des segment(s) chromosomique(s) ne se trouve(nt) pas à la « bonne place ». Il peut s'agir de translocations, d'inversions péri-centriques ou paracentriques, ou d'insertions chromosomiques.

Les anomalies chromosomiques équilibrées sont le plus souvent retrouvées chez des individus sains (un des membres d'un couple sur 300 est porteur d'une translocation équilibrée). Leur découverte se fait le plus souvent dans le cadre d'un bilan d'hypofertilité ou de fausses couches à répétition (liées à la transmission du remaniement sous forme déséquilibrée à la descendance). L'enquête familiale d'enfant ayant un déséquilibre génomique associé à

un déficit intellectuel (DI) et/ou des malformations congénitales (MC) peut conduire aussi à la détection d'un remaniement équilibré chez l'un de ses parents. De façon plus rare, une anomalie équilibrée peut être associée à un phénotype anormal lorsque le point de cassure chromosomique se situe dans un gène ou dans les séquences régulatrices d'un gène.

Anomalies chromosomiques non équilibrées (ou déséquilibrées)

En cas de perte ou de gain de matériel génomique, il s'agit d'une anomalie quantitative du génome (ou déséquilibre génomique) qui peut concerner tout un chromosome ou une partie d'un chromosome. Ce type d'anomalie est très souvent à l'origine d'un DI et/ou de MC.

Les anomalies de structure sont de nature variée. Il peut s'agir d'une perte ou d'un gain de matériel chromosomique c'est-à-dire délétion ou duplication chromosomique, ou d'un dérivé de translocation, d'inversion ou d'insertion chromosomique (si transmission d'un remaniement parental équilibré sous forme déséquilibrée à la descendance). Comme les anomalies de nombre, elles surviennent aussi le plus souvent lors de la méiose et sont donc homogènes. Elles peuvent également apparaître dans des cellules somatiques et être à l'origine de cancers.

La cytogénétique s'intéresse aux anomalies de nombre et de structure des chromosomes, en pathologie aussi bien constitutionnelle qu'acquise (tumeurs ou hémopathies malignes). Les méthodes d'étude du génome permettant la détection de ces anomalies sont abordées en prenant comme exemple celles qui sont constitutionnelles.

■ Méthodes d'analyse du génome

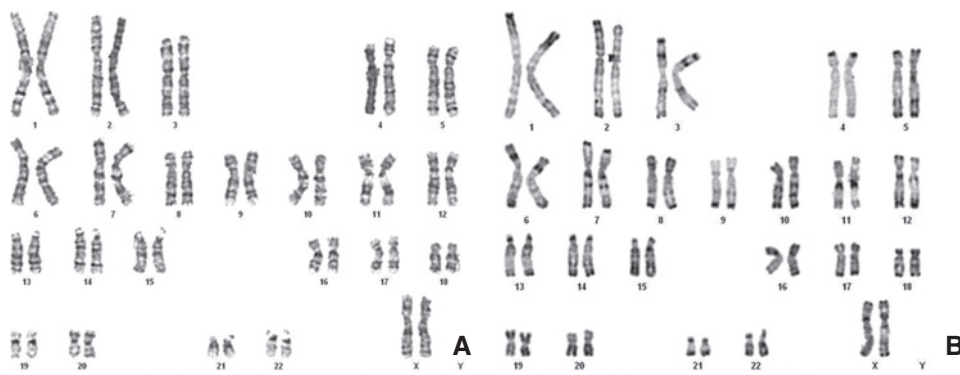
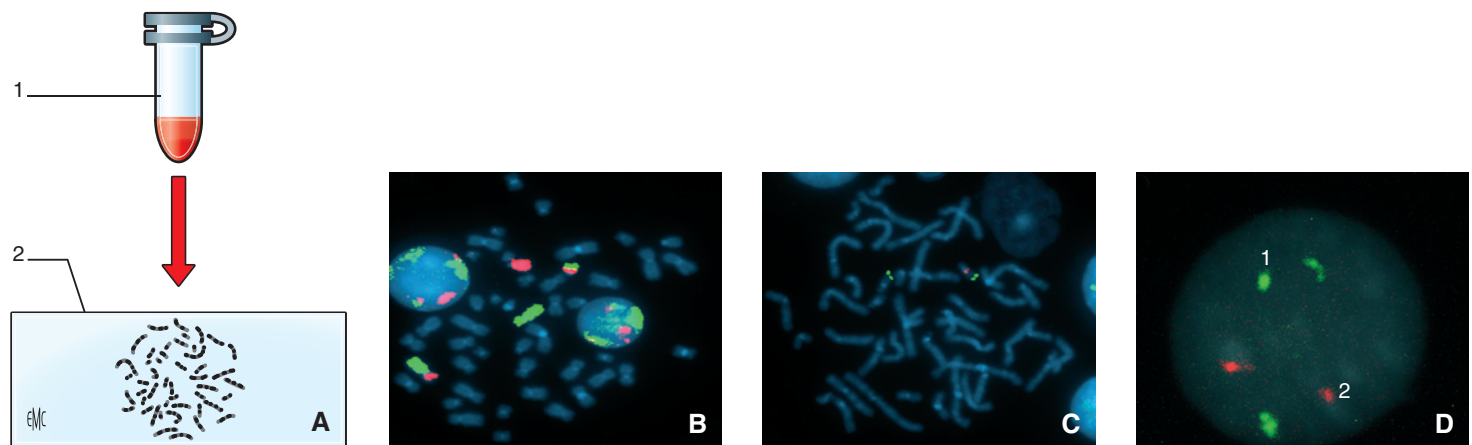
Il existe plusieurs méthodes cytogénétiques permettant l'exploration du génome. Selon les techniques utilisées, l'étude du génome est globale ou ciblée vers des régions particulières.

Caryotype

Le caryotype correspond au classement des chromosomes (les 22 paires d'autosomes et la paire de gonosomes, X et Y), par taille décroissante, au stade métaphasique ou prométaphasique, et selon l'indice centromérique défini par la position du centromère sur le chromosome. En effet, chaque chromosome est constitué d'un bras court (appelé p) et d'un bras long (appelé q) qui sont reliés par un centromère (région permettant l'attachement au fuseau de division). Sur le caryotype, les chromosomes sont représentés par paires d'homologues. Des techniques de marquage en bandes des chromosomes par différents procédés (bandes G : dénaturation par la trypsine ; bandes R : dénaturation par la chaleur) permettent la distinction de bandes claires et sombres le long des chromosomes (Fig. 1). L'agencement de ces bandes ainsi que leur taille sont spécifiques de chaque paire chromosomique. Ainsi, l'analyse du nombre de chromosomes et des bandes permet la détection d'anomalies de nombre et de structure des chromosomes. Le caryotype sur des chromosomes métaphasiques (au stade maximal de la condensation chromosomique) a une résolution de l'ordre de 10 à 15 Mb (car il s'agit de la taille moyenne d'une bande chromosomique). Étudiés à un stade plus précoce de la mitose, la prométaphase, les chromosomes sont plus allongés. On peut alors distinguer un nombre plus important de bandes dont la taille est d'environ 4 à 5 Mb. Il s'agit du caryotype dit de « haute résolution ».

L'étude du caryotype correspond donc à une analyse morphologique des chromosomes. De ce fait, il est opérateur-dépendant. Depuis sa mise au point dans les années 1960-1970, il est resté pendant longtemps le seul examen d'étude globale du génome. Il est admis qu'il permet la mise en évidence d'environ 10 à 15 % d'anomalies chromosomiques chez les patients présentant un DI et/ou des MC.

Cependant, la réalisation d'un caryotype nécessite une étape de culture cellulaire et sa résolution est au maximum de 4 à 5 Mb. Ces limites ont été dépassées par la mise au point des techniques de cytogénétique moléculaire.

**Figure 1.** Caryotype.**A.** En bandes G.**B.** En bandes R.**Figure 2.** Fluorescence in situ hybridization (FISH).

A. Principe de la FISH. La sonde (1) est déposée sur la préparation chromosomique (2), puis est recouverte par une lamelle scellée par de la colle spéciale. Ce dispositif est placé à 75 °C durant trois minutes, ce qui permet à l'acide désoxyribonucléique de la sonde et des chromosomes de se dénaturer. La lame est ensuite placée à 37 °C durant quelques heures pour permettre à la sonde de s'hybrider sur ses séquences chromosomiques complémentaires.

B. Caractérisation par FISH d'une translocation réciproque impliquant les chromosomes 10 et 13. L'hybridation d'une sonde de peinture du chromosome 10 (signal vert) et du chromosome 13 (signal rouge) met en évidence les deux chromosomes 10 et 13 normaux (non remaniés) et les deux chromosomes dérivés de la translocation.

C. Diagnostic par FISH d'une microdélétion 22q11.21 associée au syndrome de DiGeorge/vélo-cardio-facial (DG/VCF). L'absence de signal rouge sur un des chromosomes 22 révèle une délétion au locus DGS/VCF situé en 22q11.21. La sonde marquée en vert est une sonde contrôle, située en 22q13.3, permettant de repérer les chromosomes 22 sur la métaphase.

D. Diagnostic par FISH d'une trisomie 21 sur noyau interphasique. L'hybridation d'une sonde spécifique du chromosome 21 (1, signal vert) génère trois signaux dans le noyau du lymphocyte obtenu à partir d'un échantillon de sang non cultivé. Le signal rouge (2) correspond à l'hybridation d'une sonde spécifique du chromosome 14. Ce diagnostic cytogénétique par FISH est établi en quelques heures.

Cytogénétique moléculaire

Principe de la « fluorescence in situ hybridization »

Dans les années 1980, la technique de *fluorescence in situ hybridization* (FISH) a constitué un saut technologique en permettant d'une part la détection de remaniements chromosomiques d'une taille inférieure à 5 Mb et d'autre part l'étude des anomalies chromosomiques sur les noyaux en interphase. Le principe de cette technique consiste à utiliser un fragment ou un ensemble de fragments d'ADN appelés sondes, car rendus fluorescents par voie chimique (le procédé qui consiste à intégrer un fluorochrome dans un fragment d'ADN est appelé « marquage »). Après une étape de dénaturation de l'ADN des chromosomes et de la sonde, celle-ci va s'hybrider spécifiquement sur sa séquence cible chromosomique grâce à la complémentarité des brins d'ADN. L'observation de la fluorescence émise par la sonde s'effectue grâce à un microscope à épifluorescence^[1] (Fig. 2A).

Différentes techniques de biologie moléculaire (clonage moléculaire, *polymerase chain reaction* [PCR], etc.) ont permis de fabriquer des sondes spécifiques de différentes régions chromosomiques : sondes centromériques, subtélomériques (extrémités des chromosomes) ou recouvrant tout un chromosome (appelées sondes de peinture chromosomique). Grâce au séquençage du génome, on dispose de sondes d'une taille de 30 à 150 kb cou-

vrant l'ensemble du génome et dont la localisation est donnée par des sites internet tels que celui de l'université Santa Cruz de Californie. Le choix des sondes à utiliser est fonction du diagnostic de l'anomalie chromosomique à établir.

De plus, il est possible d'hybrider plusieurs sondes sur une préparation chromosomique en incorporant des fluorochromes différents ou des combinaisons spécifiques de fluorochromes. Ainsi, plusieurs locus peuvent être étudiés simultanément. L'une des applications les plus spectaculaires fut la mise au point à la fin des années 1990 du caryotype en multifuorescence^[2]. En marquant les 22 paires chromosomiques autosomiques, le chromosome X et le chromosome Y avec 24 combinaisons de cinq fluorochromes spécifiques de chaque paire chromosomique, il a été possible, avec des logiciels dédiés, de classer les chromosomes selon les longueurs d'onde émises par la combinaison de leurs sondes spécifiques et de réaliser un caryotype en multifuorescence.

Applications cliniques de la « fluorescence in situ hybridization »

La technique de FISH peut être effectuée sur des chromosomes en métaphase ou sur des noyaux en interphase (c'est la FISH interphasique).

« Fluorescence in situ hybridization » sur métaphase : un complément du caryotype

Diagnostic par « fluorescence in situ hybridization » des syndromes microdélétionnels. Les syndromes microdélétionnels correspondent à des pertes de fragments chromosomiques d'une taille en général comprise entre 500 000 paires de bases (500 kb) et 4 000 000 de paires de bases (4 Mb) qui sont non décelables par le caryotype^[3]. Ces microremaniements sont pour la plupart récurrents du fait de l'existence d'une architecture particulière de l'ADN dans certaines régions du génome.

Dans certaines régions du génome, il existe des répétitions segmentaires correspondant à des séquences d'ADN de 10 à 400 kb de longueur qui sont spécifiques d'un chromosome donné et appelées duplications segmentaires ou *low copy repeat* (LCR). Elles sont généralement espacées de 500 kb à 4 Mb et ont pour un chromosome donné une grande homologie de séquence (95–99 %). Elles sont particulièrement présentes dans les régions centromériques et télomériques. Lors de la méiose, la grande homologie de séquence de ces blocs d'ADN favorise les recombinaisons illégitimes appelées recombinaisons homologues non alléliques (*non-allelic homologous recombination* [NAHR]). Ainsi, la région comprise entre deux LCR, de même orientation, est délétée ou dupliquée suite à cette recombinaison illégitime. Lorsque ce mécanisme est à l'origine d'un déséquilibre chromosomique, la taille du segment remanié est toujours identique entre les patients et les points de cassure se situent dans les LCR. Ces remaniements sont appelés « désordre génomique », terme introduit par Lupski en 1998 pour désigner les pathologies qui résultent de ce mécanisme. Actuellement, le terme de « désordre génomique » s'est élargi et s'applique aussi à des pathologies associées à des remaniements chromosomiques qui ne répondent pas au mécanisme de NAHR.

L'exemple le plus connu est la microdélétion 22q11.2, dont la taille communément observée est de 3 Mb (et plus rarement de 1,5 Mb) et qui est associée au syndrome de DiGeorge/vélocardio-facial. Il existe aujourd'hui une cinquantaine de syndromes microdélétionnels décrits. Cependant, pour mettre en évidence par la technique de FISH les remaniements associés à ces syndromes, il est nécessaire que le patient présente un tableau clinique évocateur. En effet, la FISH ne permet pas une étude globale du génome contrairement au caryotype, elle ne renseigne que sur la région chromosomique étudiée. Elle n'a donc sa place qu'après un examen clinique détaillé capable de reconnaître le phénotype associé (Fig. 2C).

Caractérisation d'une anomalie chromosomique détectée par le caryotype. Une autre application majeure de la technique de FISH est la caractérisation d'une anomalie chromosomique décelée sur le caryotype. Dans certaines situations, l'observation des bandes chromosomiques ne permet pas de préciser le remaniement. Dans ces situations, les sondes de peinture et le caryotype en multifuorescence sont particulièrement indiqués (Fig. 2B).

Remaniements des régions subtélomériques. En 1995, par des techniques de biologie moléculaire, Flint et al. ont mis en évidence 5 % d'anomalies chromosomiques cryptiques des télomères chez des patients présentant un DI syndromique^[4]. Ultérieurement, des panels de sondes explorant les 41 extrémités subtélomériques par FISH ont été développés pour détecter ces microremaniements non visibles sur le caryotype^[5]. L'utilisation de ces sondes chez patients atteints de DI syndromique et dont le caryotype est normal permet la détection d'un taux d'anomalies d'environ 2,5 à 5 %^[6]. Cette technique de FISH « multi-locus » a donc apporté un bénéfice considérable dans le bilan étiologique de ces patients. Par ailleurs, la description phénotypique des patients porteurs de ces remaniements a permis l'individualisation de syndromes cliniquement reconnaissables comme les délétions 1p36, 2q37 et 9q34. Une recherche ciblée peut être ainsi réalisée à partir d'un diagnostic clinique.

« Fluorescence in situ hybridization » interphasique

La FISH interphasique est une technique qui s'est rapidement imposée, car elle permet de s'affranchir de la culture cellulaire. En effet, les signaux d'hybridation générés par les sondes d'une taille de plus de 150 kb sont nettement visibles sur les noyaux. Un plus grand nombre de cellules (les noyaux sont dix à 50 fois

plus nombreux que les métaphases sur une préparation de cellules cultivées) peuvent ainsi être étudiées. La FISH interphasique peut être réalisée à partir de différents types de cellules (cellules buccales, fibroblastes, cellules de moelle osseuse, lymphocytes, etc.). Parmi les principales applications, on peut citer le diagnostic rapide des anomalies chromosomiques en pré- et postnatal, et le diagnostic préimplantatoire.

Diagnostic postnatal de certaines anomalies chromosomiques. En postnatal, la FISH sur noyaux interphasiques est utilisée pour le diagnostic rapide des principales aneuploïdies (trisomie 21, 13 et 18) en cas de suspicion clinique à la naissance, du sexe en cas d'ambiguïté sexuelle et de la microdélétion 22q11.2 s'il existe une cardiopathie conotruncale.

Diagnostic anténatal de certaines anomalies chromosomiques. L'une des applications les plus connues de la FISH interphasique est le diagnostic des trisomies 13, 18 et 21 sur amniocytes non cultivés. À partir de cellules obtenues par ponction de liquide amniotique, l'hybridation de sondes spécifiques de locus des chromosomes 13, 18 et 21 permet en 24 heures, sans attendre dix à 15 jours de culture, la détection d'une aneuploïdie impliquant ces trois chromosomes (Fig. 2D).

Diagnostic préimplantatoire des anomalies chromosomiques. Enfin, l'une des applications les plus spectaculaires de la FISH interphasique est certainement le diagnostic préimplantatoire des anomalies chromosomiques. La situation la plus fréquente est celle où l'un des parents est porteur d'une translocation équilibrée. La ségrégation méiotique peut générer des gamètes déséquilibrés à l'origine de trisomies ou de monosomies partielles conduisant, selon l'importance du déséquilibre génomique, à des fausses couches spontanées, des morts fœtales in utero ou des enfants présentant un DI et/ou des MC. Après fécondation in vitro, deux blastomères sont prélevés puis étudiés par FISH, avec des sondes situées sur des segments impliqués dans la translocation, pour détecter les éventuelles anomalies générées lors de la ségrégation méiotique. Seuls les embryons sans déséquilibre chromosomique sont transférés.

La FISH est donc un examen d'une grande sensibilité capable de préciser des anomalies décelées sur le caryotype, de détecter des microremaniements cryptiques associés à des syndromes cliniques et de rechercher des remaniements chromosomiques sur des noyaux en interphase. Cependant, il ne s'agit pas d'une technique d'étude globale du génome. Cette limite va être dépassée par l'avènement de l'hybridation génomique comparative ou *comparative genomic hybridization* (CGH) array.

« Comparative genomic hybridization array »

Vers la fin des années 1990, la cytogénétique moléculaire a connu une révolution grâce au développement de la CGH array^[7,8]. En effet, avec cette technique il est possible d'effectuer une étude pangénomique avec un haut niveau de résolution sans nécessité de culture cellulaire. Précédemment, le caryotype permettait une étude de tous les chromosomes, mais avec un seuil de détection d'une anomalie limité à 5 à 10 Mb. Grâce à la FISH, des remaniements non visibles sur le caryotype (< 5 Mb) étaient décelés, mais l'approche restait ciblée : une orientation clinique ou cytogénétique était nécessaire pour choisir la sonde à utiliser afin de mettre en évidence l'anomalie. Ainsi, la technique de CGH array s'impose actuellement comme la technique de choix en dépassant les facteurs limitants du caryotype et de la FISH.

Technique

La technique de CGH array fait appel à l'utilisation d'une « puce à ADN » ou *microarray*. Il s'agit d'une lame sur laquelle sont fixés des milliers voire des millions de fragments d'ADN correspondant à des locus donnés (c'est-à-dire à des régions chromosomiques précises). L'objectif est de déterminer s'il existe un gain ou une perte de matériel chromosomique sur un ou plusieurs de ces locus chez le patient testé. En fonction du nombre et de la localisation génomique des séquences d'ADN présentes sur la lame, la résolution de la puce (c'est-à-dire sa capacité à détecter un remaniement de plus ou moins grande taille) va varier. Actuellement, les puces utilisées en diagnostic ont une résolution qui oscille entre 60 kb et 1 kb.

Au plan technique, le principe de la CGH array consiste à hybrider sur la lame une même quantité d'un ADN témoin et d'un

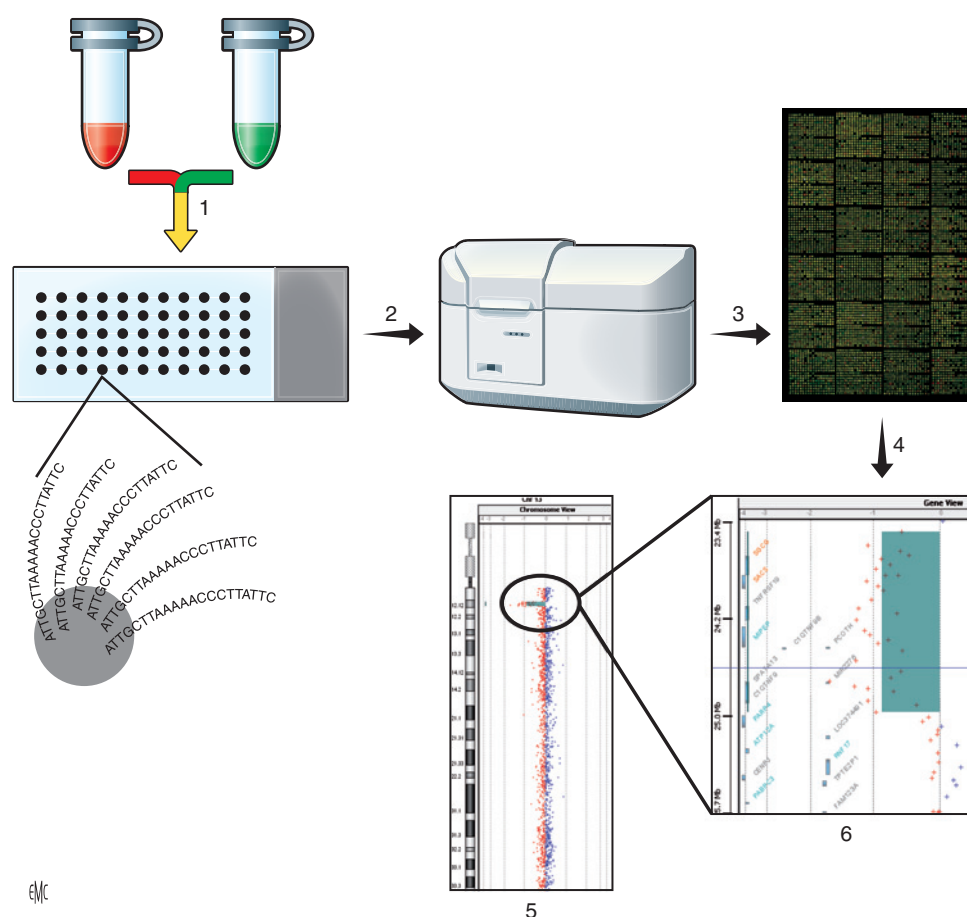


Figure 3. Comparative genomic hybridization (CGH) array. 1. Principe : une même quantité d'acide désoxyribonucléique (ADN) génomique d'un patient marqué avec de la cyanine 3 (représentée en vert) est mélangée avec la même quantité d'ADN d'un témoin marquée avec de la cyanine 5 (représentée en rouge). L'ensemble de cet ADN est hybridé sur une lame sur laquelle ont été fixées des séquences d'ADN couvrant l'ensemble du génome. Noter que chaque spot sur la lame est constitué de milliers d'exemplaires de la même séquence d'ADN monobrin (d'une taille d'environ 60 bases). Ce dispositif appelé « puce à ADN » peut contenir plusieurs milliers à millions de spots. La résolution d'une puce dépend du nombre de spots donc de séquences d'ADN spécifiques fixées. 2. Après hybridation, la lame est placée dans un scanner qui calcule spot par spot un ratio entre l'intensité de la fluorescence de la cyanine 3 par rapport à celle de la cyanine 5. 3. Image obtenue après numérisation de la puce dans le scanner : si le nombre de molécules d'ADN du patient et celui du témoin, correspondant à une séquence d'un spot donné, sont égaux, le ratio des intensités de fluorescence est égal à 1 (ou 0 en logarithme de base 2). S'il existe une délétion d'une région chez le patient, le ratio sera de -1 (en \log_2). En cas de duplication d'une région, le ratio est de $1,5$ (en \log_2). 4. Un logiciel dédié va par la suite générer une représentation graphique de l'anomalie. Le résultat du ratio de chaque spot est représenté le long des chromosomes sous la forme d'un point. Ici, de nombreux spots correspondant à une région chromosomique donnée ont un ratio égal à -1 , ce qui signifie l'existence d'une délétion de cette région. Noter que le contenu en gènes du segment délété est immédiatement accessible. 5. Détection d'une délétion de $1,5$ Mb sur le chromosome 13. 6. Gènes contenus dans la délétion.

ADN patient marqué chacun par un fluorochrome différent. Après cette étape d'hybridation, les signaux générés sur chaque fragment d'ADN sont numérisés par un scanner et un rapport de leur intensité est donc calculé. Une valeur de ce ratio au-delà de valeurs seuils préalablement définies correspond à une perte ou un gain de matériel chromosomique. Il s'agit donc d'une comparaison de « quantité de régions génomiques » d'un patient par rapport à un témoin au moyen de l'hybridation fluorescente, d'où le terme d'« hybridation génomique comparative » (Fig. 3). Une fois les ratios établis, un logiciel dédié génère une représentation graphique des résultats chromosome par chromosome. En cas d'anomalie, le contenu génique du segment chromosomique concerné est immédiatement connu.

Les déséquilibres génomiques mis en évidence par CGH array sont dénommés *copy number variant* (CNV). Ils correspondent à des variations quantitatives du génome (c'est-à-dire à un gain ou à une perte de matériel chromosomique) en comparaison avec un génome de référence (diploïde).

Lorsqu'un CNV est mis en évidence par CGH array, l'utilisation d'une technique indépendante pour d'une part confirmer l'anomalie (car il existe des faux positifs), et d'autre part déterminer le mécanisme sous-jacent du remaniement, s'impose. La FISH est la technique de choix, car elle renseigne sur la localisation physique du segment remanié : en effet, sur métaphases, il est aisé de

préciser par FISH le(s) chromosome(s) impliqué(s) dans le remaniement. Par exemple, en cas de gain de matériel chromosomique détecté par CGH array, il peut s'agir d'une duplication au locus (sur le même chromosome) ou d'un dérivé d'insertion ou de translocation chromosomique. Lorsque l'anomalie est confirmée chez le proposant, une étude par FISH des parents est effectuée pour préciser son caractère de novo ou hérité. Cet examen chez les parents est donc indispensable pour le conseil génétique. Par ailleurs, le caractère de novo ou hérité d'un CNV est un élément important pour déterminer s'il est en lien avec la pathologie observée (cf. infra).

Enfin, il est à noter qu'il existe d'autres types de puces qui contiennent des *single nucleotide polymorphisms* (SNP). C'est un type de polymorphisme de l'ADN dans lequel deux chromosomes diffèrent sur un segment donné par une seule paire de bases. Ces puces permettent la détection de pertes d'hétérozygotie et de ce fait de disomie uniparentale, ainsi que de l'origine parentale d'un remaniement (lorsque les parents sont testés avec le proposant). Cette technique est appelée SNP array.

En France, le terme d'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) a été choisi par le réseau français « AChro-Puce » pour désigner aussi bien les techniques de CGH array que les techniques de SNP array. Le terme de caryotype moléculaire est aussi utilisé.

Apports de l'analyse chromosomique sur puce à ADN en pathologie constitutionnelle

Détection d'anomalies chromosomiques cryptiques chez les patients présentant un déficit intellectuel et/ou des malformations congénitales. L'ACPA a considérablement amélioré l'exploration des patients présentant un DI et/ou des MC. Différentes études ont montré que l'ACPA permettait de détecter environ 12 % de déséquilibres génomiques, non visibles sur le caryotype, à l'origine du phénotype observé chez ces patients [9]. Ainsi, l'étude globale du génome par caryotype puis par l'ACPA (avec une résolution d'environ 400 kb) révèle environ 20 à 30 % de CNV considérés comme causaux chez ces patients.

Parmi les nouvelles anomalies détectées par l'ACPA, la plupart ne sont pas récurrentes, ce qui signifie qu'elles ne répondent pas à un mécanisme de NAHR. Elles sont en général dispersées au sein du génome. Cependant, certaines régions chromosomiques sont le siège de remaniements plus fréquents que d'autres. C'est le cas, par exemple, de la microduplication Xq28 impliquant le gène *MeCP2* (*Methyl CpG binding protein 2*) [10].

Par ailleurs, l'utilisation élargie de l'ACPA à d'autres indications a révélé des anomalies associées à des maladies neuropsychiatriques telles que les troubles autistiques, la schizophrénie, les troubles bipolaires ou l'épilepsie isolée [11-14]. Dans ces pathologies, il existe une très grande variabilité phénotypique intra- et interfamiliale associée à une pénétrance incomplète (tous les individus porteurs du CNV ne développent pas la symptomatologie). Ainsi, les indications de l'ACPA dépassent aujourd'hui celles du caryotype. Elles concernent, en plus des patients présentant un DI et/ou des MC, ceux ayant des troubles neuropsychiatriques, mais aussi dans certains cas des anomalies cardiaques, rénales, squelettiques ou autres isolées.

En plus d'être un examen plus performant que le caryotype pour détecter les anomalies chromosomiques, l'ACPA offre l'avantage d'être un examen automatisable permettant une meilleure fiabilité, une reproductibilité des résultats, ainsi qu'une étude d'un plus grand nombre de patients en raison du gain de temps technique et d'analyse. De ce fait, l'ACPA est devenu l'examen de première intention à la place du caryotype pour l'étude globale du génome chez les patients présentant un DI et/ou des MC.

Identification de nouveaux syndromes cliniquement reconnaissables. La recherche systématique d'anomalies chromosomiques cryptiques chez les patients présentant un DI syndromique idiopathique a permis, par l'analyse clinique rétrospective des patients, de décrire de nouveaux syndromes associés à des microdélétions ou des microduplications (comme la délétion 17q21.31) [15]. En effet, l'approche par ACPA permet d'aller du génotype au phénotype. Classiquement, les syndromes ont été initialement décrits cliniquement (comme la trisomie 21) et les bases génétiques n'ont été découvertes que secondairement. L'ACPA permet un processus inverse où l'identification de l'anomalie chromosomique précède la description phénotypique. La reconnaissance clinique de ces syndromes permet ensuite une recherche ciblée du remaniement cryptique chez d'autres patients par des techniques de FISH ou de biologie moléculaire (PCR quantitative, etc.).

Établir des corrélations phénotype-génotype. Un autre avantage majeur de l'ACPA a été la possibilité de caractériser finement les anomalies cytogénétiques détectées dans le but d'établir des corrélations génotype-phénotype, c'est-à-dire des corrélations entre la position physique des réarrangements chromosomiques et les manifestations cliniques. Du fait de la connaissance du contenu en gènes du segment remanié, le cytogénéticien peut rechercher le(s) gène(s) potentiellement impliqué(s) dans le phénotype. Par ailleurs, la comparaison d'anomalies chevauchantes chez plusieurs patients permet d'identifier des régions et/ou des gènes contribuant à un signe clinique spécifique, voire à l'ensemble des symptômes du syndrome.

Mise en évidence de la complexité de certains remaniements chromosomiques. L'ACPA a aussi conduit à l'identification d'anomalies complexes non détectées par les techniques de cytogénétique classique. Par exemple, l'exploration des patients porteurs d'anomalies chromosomiques apparemment équilibrées (à type de translocation, inversion ou remaniement complexe)

dont le phénotype est anormal, a permis la mise en évidence d'un déséquilibre génomique cryptique dans environ 40 % des cas [16,17]. Étonnamment, dans la moitié des cas, l'anomalie ne se situe pas au niveau du point de cassure, mais ailleurs dans le génome. L'ACPA a donc été d'un apport majeur dans le bilan étiologique de ces patients.

Identification de bases moléculaires de pathologies mendéliennes rares. En recherche, la technique d'ACPA a été utilisée pour rechercher des remaniements chromosomiques dans des cohortes ciblées de patients ayant une pathologie commune supposée monogénique. L'objectif était de détecter d'éventuelles anomalies chromosomiques récurrentes ou non, associées à la pathologie étudiée et d'identifier d'éventuel(s) gène(s) en cause. Ainsi, cette approche permet d'identifier un locus d'intérêt dans des maladies sporadiques où l'analyse de liaison n'est pas possible. Cette stratégie a permis de cloner de nouveaux gènes responsables de pathologies dominantes. Par exemple, le gène *TCF4* (*Transcription factor 4*) impliqué dans le syndrome de Pitt-Hopkins (syndrome associant un retard psychomoteur sévère, une épilepsie, des crises d'hyperventilation, une microcéphalie, un retard de croissance et une dysmorphie faciale) (OMIM 610954) a pu être identifié par cette démarche. La détection d'une délétion hétérozygote chez un patient a conduit au criblage des gènes contenus dans le segment aneusomique chez d'autres patients présentant un syndrome de Pitt-Hopkins mais sans déséquilibre génomique. La mise en évidence de mutations dans le gène *TCF4* a ensuite apporté la preuve de sa causalité dans cette pathologie [18]. Cette approche pour identifier des gènes candidats dans des maladies dominantes est actuellement supplantée par la technique de séquençage haut débit.

Limites

Limites inhérentes à la technique d'ACPA. L'ACPA a cependant des limites qui sont inhérentes à la technique. En effet, basée sur une comparaison de quantité de matériel chromosomique entre un patient et un témoin, elle ne détecte pas les remaniements chromosomiques équilibrés. Une étude a montré qu'une translocation ou inversion de novo équilibrée ne serait pas détectée dans environ 0,23 % des cas en postnatal [19]. Par ailleurs, les anomalies chromosomiques en faible mosaïque (inférieure à 10 à 20 %) et les triploïdies 69,XXX ne sont pas non plus décelées par la technique de CGH *array*. Il est à noter que les puces à SNP peuvent mettre en évidence les triploïdies.

Limites liées à la difficulté d'interprétation des anomalies détectées. La mise en évidence d'un CNV chez un patient signifie qu'il est porteur d'un déséquilibre génomique. Mais le terme de CNV ne préjuge pas de l'existence d'un lien entre ce CNV et la pathologie observée. En postnatal, l'application de l'ACPA chez les patients avec un DI et/ou une MC a révélé que l'impact clinique d'un CNV identifié peut parfois être difficile à déterminer. Schématiquement, quatre types de CNV peuvent être distingués : les CNV pathogènes, les CNV prédisposant à des pathologies, les CNV bénins et les CNV de signification inconnue.

Les CNV pathogènes, comme la délétion 17q21.3 ou la délétion 15q11q13, sont clairement responsables du phénotype observé chez le patient. Il s'agit habituellement d'une délétion survenant de novo et dont la taille est supérieure à 400 kb. À partir d'environ 1,5 Mb, un CNV est pratiquement toujours délétère pour l'individu porteur. Ces CNV détectés chez des individus présentant des pathologies neurodéveloppementales sont répertoriés dans les bases de données telles qu'European Cytogeneticists Association Register of Unbalanced Chromosome Aberrations, International Standard Cytogenomic Array Consortium ou Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources. Ces déséquilibres génomiques pathogènes sont à l'origine d'un phénotype anormal par quatre mécanismes principaux :

- effet de dosage génique : certains gènes sont sensibles à l'effet de dose. Cela signifie que la quantité de protéines produites par le gène est proportionnelle à son nombre de copies. Par exemple, la délétion d'un gène va entraîner une haplo-insuffisance de celui-ci (pas assez de protéine produite, car une copie du gène) et donc un phénotype anormal chez l'individu porteur ;

- effet de position : il est connu que des éléments régulateurs (répresseurs ou activateurs) peuvent agir à distance sur l'expression de gènes (jusqu'à 1 Mb). Ainsi, un réarrangement chromosomique (comme une délétion, duplication ou translocation) impliquant un élément régulateur entraîne un dysfonctionnement du gène qu'il régule. C'est ce que l'on appelle un effet de position ;
- démasquage d'une pathologie récessive : une délétion chromosomique peut démasquer une mutation récessive d'un gène situé sur l'autre allèle. De façon équivalente, une délétion à l'état homozygote d'un gène (c'est-à-dire les deux allèles) peut révéler une pathologie récessive ;
- pathologie de l'empreinte : un gène est soumis à empreinte lorsque son expression dépend de son origine parentale (maternelle ou paternelle). Il en résulte donc une haploïdie fonctionnelle et, en conséquence, la délétion de l'allèle parental exprimé conduit à un phénotype pathologique. Une des pathologies de l'empreinte la plus connue est le syndrome de Prader-Willi pour lequel 70 % des patients sont porteurs d'une délétion 15q11q13 d'origine paternelle. Le gène *SNRPN* situé dans cette région ne s'exprime qu'à partir de l'allèle paternel. En cas de délétion 15q11q13 de cet allèle paternel, il ne s'exprime plus du tout.

À côté de ces CNV pathogènes, il existe aussi des CNV qui prédisposent à la survenue de pathologies constituant ainsi un facteur de risque plus ou moins important selon la région chromosomique impliquée. Des études cas-témoins ont montré que ce type de CNV était associé de façon significative à une pathologie. Néanmoins, ils peuvent être retrouvés chez des individus sains ou des parents sains d'enfants atteints. C'est par exemple le cas de la délétion 16p11.2 qui est associée à des troubles autistiques^[20]. Dans ces situations, le conseil génétique est difficile, car la prédiction du phénotype s'avère impossible, surtout en prénatal.

D'autres CNV sont considérés comme bénins. Ils sont retrouvés chez des individus normaux^[21]. Ce sont des segments d'ADN d'une taille de 1 kb à plus de 300 kb pouvant contenir des gènes et qui sont répétés d'une à des dizaines de fois en tandem dans le génome. En 2009, Itsara et al. ont pu établir une carte de 11 700 CNV bénins couvrant environ 16 % du génome^[22]. Certains de ces CNV sont associés à des maladies multifactorielles fréquentes (comme le lupus) ou sont le témoin de l'adaptation humaine à l'environnement.

Enfin, il existe aussi des CNV qui soulèvent des difficultés d'interprétation, car il existe une incertitude quant à leur pathogénicité^[23]. Ces CNV sont appelés *variation of uncertain significance* (VOUS) ou variation de signification incertaine. Ces CNV correspondent souvent à une duplication (70 % des cas) d'une taille de moins de 700 kb et sont fréquemment retrouvés chez l'un des parents^[24].

Du fait de la difficulté d'interprétation de certains CNV ou de la possible détection d'un CNV ayant un impact médical sans lien avec l'indication initiale (comme la délétion du gène *BRCA1* prédisposant au cancer du sein), il est important de souligner qu'une information claire doit être fournie aux parents. Le recueil d'un consentement spécifique, dans le cadre d'une consultation de génétique, en vue de la réalisation de cette analyse est nécessaire.

■ Conclusion

Les anomalies chromosomiques constituent la principale cause de DI et de MC. Pendant longtemps, ces anomalies ont été étudiées par l'analyse du caryotype qui repose sur l'observation microscopique des chromosomes. L'avènement des puces à ADN a été une avancée considérable dans le domaine de la cytogénétique. Cet outil offre en effet la possibilité de réaliser un examen pangénomique à un très haut niveau de résolution avec d'excellentes fiabilité et reproductibilité des résultats. Il s'est donc imposé comme la technique de choix en diagnostic postnatal pour l'exploration des patients avec un DI et/ou des MC. Aujourd'hui, l'ACPA a remplacé le caryotype comme examen chromosomique de première intention chez ces patients dans la plupart des laboratoires de cytogénétique de France. Mais la

détection d'un déséquilibre génomique soulève parfois de nombreuses questions quant à ses conséquences cliniques. Cette limite liée à l'interprétation des données générées souligne l'importance de la prescription de cet examen par un généticien en vue du conseil génétique.

“ Points essentiels

- Le caryotype permet une étude globale et cellulaire du génome avec une résolution d'environ 5 à 10 Mb. Les chromosomes sont analysés au stade métaphasique (ou prométaphasique) du cycle cellulaire. Ainsi, la réalisation du caryotype impose une étape de culture cellulaire.
- La FISH offre un niveau de résolution supérieur à celui du caryotype grâce à l'utilisation de sondes d'une taille comprise entre 30 kb et 150 kb. Par ailleurs, elle permet de s'affranchir de la culture cellulaire car ces sondes sont visualisables dans le noyau interphasique. Cependant, elle ne permet qu'une étude ciblée du génome : une orientation cytogénétique ou clinique est nécessaire pour choisir la sonde à utiliser afin d'établir le diagnostic.
- L'ACPA permet une étude globale du génome avec un haut niveau de résolution (jusqu'à moins de 1000 paires de bases selon les puces utilisés). Elle dépasse ainsi les limites du caryotype et de la FISH. Il s'agit d'un examen automatisable permettant une meilleure reproductibilité et fiabilité des résultats, ainsi qu'une étude d'un plus grand nombre de patients en raison du gain de temps technique et d'analyse.
- L'ACPA détecte des variations du nombre de copies du génome, appelées CNV, en comparant la quantité d'ADN d'un patient à celle d'un témoin. Ainsi, elle ne met pas en évidence les remaniements chromosomiques équilibrés sans perte ni gain de matériel chromosomique, ni les anomalies en faible mosaïque (< 10 % des cellules sont porteuses de l'anomalie).
- L'ACPA a été d'un apport considérable dans le bilan étiologique des patients présentant un DI et/ou des MC en détectant chez eux environ 12 % d'anomalies chromosomiques cryptiques (non visibles sur le caryotype) pathogènes. Cependant, l'application de la CGH *array* chez ces patients a révélé que l'impact clinique d'un CNV identifié peut parfois être difficile à déterminer.
- En postnatal, l'ACPA est devenu l'examen de première intention, à la place du caryotype, pour l'étude globale du génome chez les patients présentant un DI et/ou des MC.

Déclaration d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts en relation avec cet article.



■ Références

- [1] Pinkel D, Straume T, Gray JW. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;**83**:2934-8.
- [2] Speicher MR, Gwyn Ballard S, Ward DC. Karyotyping human chromosomes by combinatorial multi-fluor FISH. *Nat Genet* 1996;**12**:368-75.
- [3] Lupski JR. Genomic disorders: structural features of the genome can lead to DNA rearrangements and human disease traits. *Trends Genet* 1998;**14**:417-22.
- [4] Flint J, Wilkie AO, Buckle VJ, Winter RM, Holland AJ, McDermid HE. The detection of subtelomeric chromosomal rearrangements in idiopathic mental retardation. *Nat Genet* 1995;**9**:132-40.

- [5] Knight SJ, Horsley SW, Regan R, Lawrie NM, Maher EJ, Cardy DL, et al. Development and clinical application of an innovative fluorescence in situ hybridization technique which detects submicroscopic rearrangements involving telomeres. *Eur J Hum Genet* 1997;**5**:1–8.
- [6] Ravnán JB, Tepperberg JH, Papenhausen P, Lamb AN, Hedrick J, Eash D, et al. Subtelomere FISH analysis of 11 688 cases: an evaluation of the frequency and pattern of subtelomere rearrangements in individuals with developmental disabilities. *J Med Genet* 2006;**43**:478–89.
- [7] Pinkel D, Seagraves R, Sudar D, Clark S, Poole I, Kowbel D, et al. High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nat Genet* 1998;**20**:207–11.
- [8] Solinas-Toldo S, Lampel S, Stilgenbauer S, Nickolenko J, Benner A, Dohner H, et al. Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer* 1997;**20**:399–407.
- [9] Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet* 2010;**86**:749–64.
- [10] Carvalho CM, Zhang F, Liu P, Patel A, Sahoo T, Bacino CA, et al. Complex rearrangements in patients with duplications of MECP2 can occur by fork stalling and template switching. *Hum Mol Genet* 2009;**18**:2188–203.
- [11] Cook Jr EH, Scherer SW. Copy-number variations associated with neuropsychiatric conditions. *Nature* 2008;**455**:919–23.
- [12] Sebat J, Lakshmi B, Malhotra D, Troge J, Lese-Martin C, Walsh T, et al. Strong association of de novo copy number mutations with autism. *Science* 2007;**316**:445–9.
- [13] Olson H, Shen Y, Avallone J, Sheidley BR, Pinsky R, Bergin AM, et al. Copy number variant plays an important role in clinical epilepsy. *Ann Neurol* 2014;**75**:943–58.
- [14] Pinto D, Delaby E, Merico D, Barbosa M, Merikangas A, Klei L, et al. Convergence of genes and cellular pathways dysregulated in autism spectrum disorders. *Am J Hum Genet* 2014;**95**:677–94.
- [15] Koolen DA, Vissers LE, Pfundt R, de Leeuw N, Knight SJ, Regan R, et al. A new chromosome 17q21.31 microdeletion syndrome associated with a common inversion polymorphism. *Nat Genet* 2006;**38**:999–1001.
- [16] De Gregori M, Ciccone R, Magini P, Pramparo T, Gimelli S, Messa J, et al. Cryptic deletions are a common finding in “balanced” reciprocal and complex chromosome rearrangements: a study of 59 patients. *J Med Genet* 2007;**44**:750–62.
- [17] Schluth-Bolard C, Delobel B, Sanlaville D, Boute O, Cuisset JM, Sukno S, et al. Cryptic genomic imbalances in de novo and inherited apparently balanced chromosomal rearrangements: array CGH study of 47 unrelated cases. *Eur J Med Genet* 2009;**52**:291–6.
- [18] Amiel J, Rio M, de Pontual L, Redon R, Malan V, Boddaert N, et al. Mutations in TCF4, encoding a class I basic helix-loop-helix transcription factor, are responsible for Pitt-Hopkins syndrome, a severe epileptic encephalopathy associated with autonomic dysfunction. *Am J Hum Genet* 2007;**80**:988–93.
- [19] Hochstenbach R, van Binsbergen E, Engelen J, Nieuwint A, Polstra A, Poddighe P, et al. Array analysis and karyotyping: workflow consequences based on a retrospective study of 36,325 patients with idiopathic developmental delay in the Netherlands. *Eur J Med Genet* 2009;**52**:161–9.
- [20] Walters RG, Jacquemont S, Valsesia A, de Smith AJ, Martinet D, Andersson J, et al. A new highly penetrant form of obesity due to deletions on chromosome 16p11.2. *Nature* 2010;**463**:671–5.
- [21] Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, et al. Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 2006;**444**:444–54.
- [22] Itsara A, Cooper GM, Baker C, Girirajan S, Li J, Absher D, et al. Population analysis of large copy number variants and hotspots of human genetic disease. *Am J Hum Genet* 2009;**84**:148–61.
- [23] Cooper GM, Coe BP, Girirajan S, Rosenfeld JA, Vu TH, Baker C, et al. A copy number variation morbidity map of developmental delay. *Nat Genet* 2011;**43**:838–46.
- [24] Kaminsky EB, Kaul V, Paschall J, Church DM, Bunke B, Kunig D, et al. An evidence-based approach to establish the functional and clinical significance of copy number variants in intellectual and developmental disabilities. *Genet Med* 2011;**13**:777–84.

Pour en savoir plus

- Tompson MW, McInnes RR, Willard H. *Génétique médicale*. Paris: Médecine-Sciences Flammarion; 1995.
- Site de l'Université Santa Cruz de Californie : <http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>.
- European Cytogeneticists Association Register of Unbalanced Chromosome Aberrations : www.ecaruca.net.
- International Standard Cytogenomic Array Consortium : www.isca.genetics.emory.edu/.
- Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources : www.decipher.sanger.ac.uk/.

V. Malan, Maître de conférences des Universités, praticien hospitalier (valerie.malan@nck.aphp.fr).

S. Romana, Professeur des Universités, praticien hospitalier.

Service de cytogénétique, Université Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants-Malades, 149, rue de Sèvres, 75015 Paris, France.

Toute référence à cet article doit porter la mention : Malan V, Romana S. Diagnostic des anomalies chromosomiques en pathologie constitutionnelle. EMC - Traité de Médecine Akos 2015;10(1):1-8 [Article 8-0400].

Disponibles sur www.em-consulte.com



Arbres
décisionnels



Iconographies
supplémentaires



Vidéos/
Animations



Documents
légaux



Information
au patient



Informations
supplémentaires



Auto-
évaluations



Cas
clinique