

Guillemette Clément^{1,2}, Céline Bonnet^{2,3}, David Pellerin⁴, Virginie Roth³, Marion Wandzel³, Laëticia Lambert^{2,5}, Solène Frismand¹, Frédéric Weber³, Florent Girardier³, Clément Robin³, Stéphanie Cacciatore³, Myriam Bronner³, Armand Hocquel¹, Marian Douarinou¹, Anaïs Grosset¹, Ines Bekkour¹, Marie-Josée Dicaire⁶, Bernard Brais^{4,6}, Mathilde Renaud^{2,5}

1 : service de neurologie, CHRU Nancy ; 2 : INSERM-U1256 NGERE, Université de Lorraine, Nancy, France ; 3 : Laboratoire de Génétique, CHRU Nancy ; 4 : Department of Neurology and Neurosurgery, Montreal Neurological Hospital and Institute, McGill University, Montreal, QC, Canada ; 5 : service de génétique clinique, CHRU Nancy ; 6 : Department of Human Genetics, McGill University, Montreal, QC, Canada

INTRODUCTION

Les ataxies cérébelleuses de début tardif (LOCA) sont un groupe de maladies neurodégénératives d'étiologies diverses. Actuellement, le diagnostic génétique est établi chez moins de 50% des patients.

Une nouvelle expansion intronique hétérozygote d'un triplet GAA dans le gène *FGF14* codant le **Fibroblast Growth Factor 14** a récemment été mise en évidence comme étant une cause fréquente de LOCA¹ appelée **ataxie GAA-FGF14 (GAA-FGF14 ataxia; SCA27B, late-onset [MIM: 620174])**.

La fréquence varie de 10 à 61% des causes inexpliquées de LOCA et la transmission est autosomique dominante. Les données suggèrent un **seuil pathologique ≥ 250 répétitions GAA**.

Nous proposons la description de la prévalence et du phénotype des patients porteurs de l'expansion GAA dans *FGF14* parmi la cohorte de patients Nancéiens suivis pour ataxie cérébelleuse de début tardif d'origine indéterminée.

METHODES

Identification rétrospective de **53 patients atteints d'une LOCA d'étiologie indéterminée (> 40 ans) de forme sporadique ou familiale** parmi la cohorte de patients Nancéiens atteints d'une ataxie cérébelleuse.

La méthode diagnostique pour identification de l'expansion consistait en 3 étapes successives² (**figure 1**) :

1) Long-Range PCR fluorescente (fLR-PCR)

Amplification du locus de répétition intronique GAA. Analyse des résultats à l'aide du logiciel GeneMapper. La taille de l'expansion a été calculée à l'aide de la formule : $(\text{taille du produit d'amplification PCR}-150)/3$ qui entraîne une sous-estimation du nombre de GAA, puis correction de la taille de l'expansion par régression linéaire en utilisant la méthode des moindres carrés (4 témoins internes dont la taille a été déterminée par séquençage).

2) Triplet Repeat Primed-PCR bidirectionnelle (RP-PCR)

Réalisée uniquement si la fLR-PCR ne montre pas 2 allèles à moins de 250 GAA.

Deux RP-PCR ciblant l'extrémité 5' et 3' du locus ont été réalisées en parallèle pour vérifier la présence et la nature de l'expansion GAA au locus répété. La présence de produits caractéristiques avec un **profil dentelé** indiquait la présence d'une expansion GAA au locus de répétition *FGF14*.

3) Electrophorèse sur gel ou séquençage par Sanger

- Echantillons avec **1 seul allèle normal détecté par fLR-PCR et un profil plat en RP-PCR** → **électrophorèse sur gel** des produits d'amplification de LR-PCR. Permet de distinguer les cas homozygotes avec deux allèles normaux des cas hétérozygotes avec 1 allèle normal + 1 allèle porteur d'une expansion non-GAA.

- Echantillons avec **1 seul allèle normal détecté par fLR-PCR et un profil dentelé en RP-PCR** → **électrophorèse sur gel** des produits d'amplification de LR-PCR. Permet de déterminer la taille de l'expansion.

- Echantillons avec **au moins 1 allèle de ≥ 250 unités répétées détecté sur fLR-PCR et un profil plat ou avec interruption en RP-PCR** → **Séquençage Sanger**. Permet de déterminer le motif de répétition du locus *FGF14*.

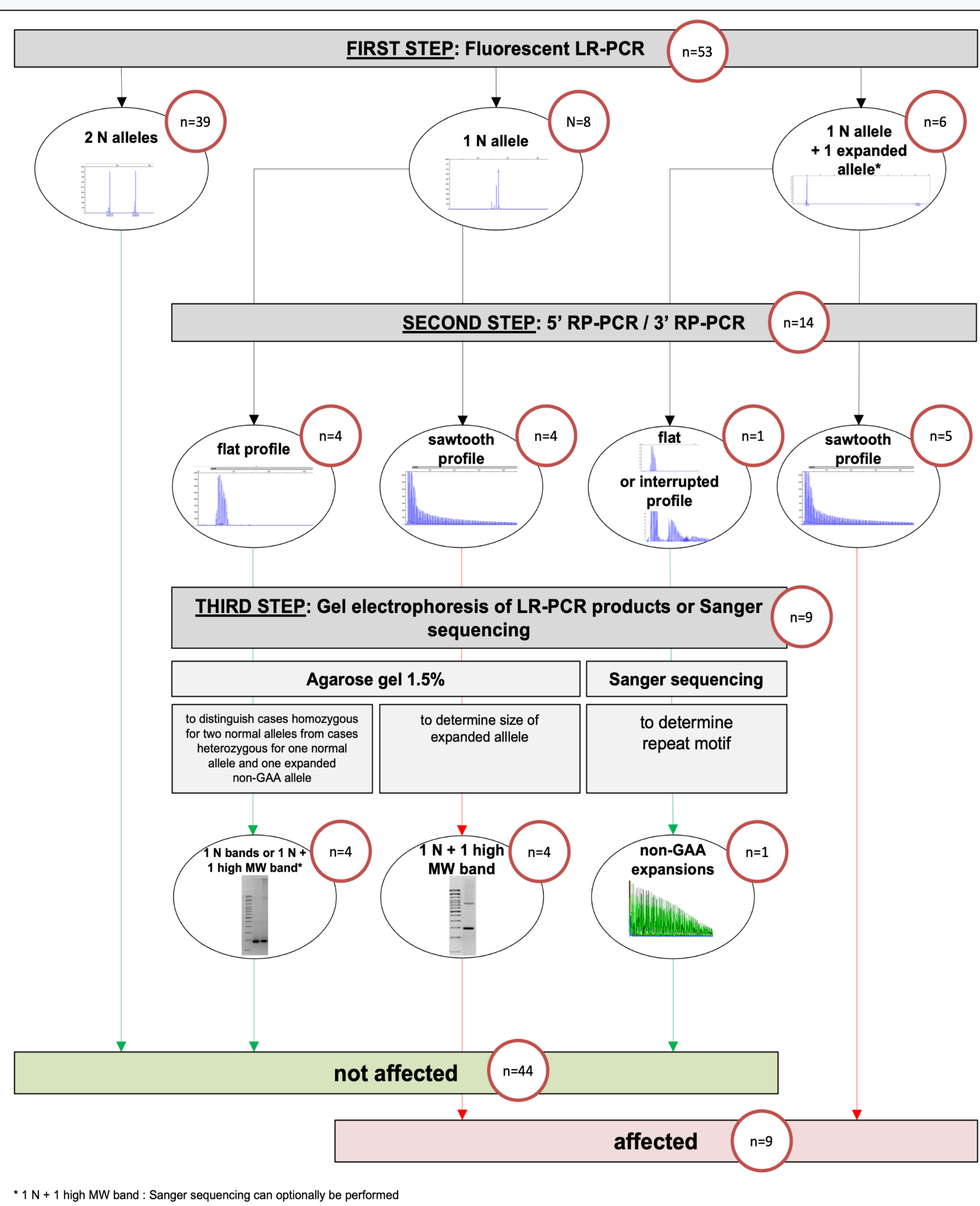


Figure 1 : Stratégie de test pour le diagnostic de l'ataxie GAA-FGF14. Le nombre d'échantillons à chaque étape est indiqué dans les cercles rouges. Les allèles normaux ont moins de 250 répétitions GAA et les allèles avec expansion ont 250 GAA ou plus. * Deux allèles expansés sont possibles. LR-PCR : long-range polymerase chain reaction, N : allèle normal, MW : molecular weight, RP-PCR : bidirectionnal repeat-primed PCR.

DISCUSSION

L'ataxie GAA-FGF14 (GAA-FGF14 ataxia; SCA27B, late-onset [MIM: 620174]) apparaît fréquente au sein des patients atteints d'une ataxie cérébelleuse de début tardif, **17% dans notre cohorte**.

Elle se caractérise par une **ataxie cérébelleuse** relativement pure, d'évolution lente, à début majoritairement **épisodique**. La transmission est **autosomique dominante à pénétrance variable**, avec quelques cas sporadiques possibles.

La présence de **épisodes d'ataxie**, le **down-beat nystagmus intercritique**, la **sensibilité à l'alcool** peuvent conduire au diagnostic **avant l'apparition de l'ataxie permanente**. L'IRMc retrouve une atrophie discrète à modérée prédominant sur le vermis.

Une amélioration légère et partielle des symptômes a été observée chez un patient traité par Diamox.

La stratégie diagnostique en **3 étapes par fLR-PCR, RP-PCR et électrophorèse sur gel ou Sanger** semble prometteuse pour son application en pratique courante.

L'ataxie GAA-FGF14 nécessite la poursuite d'explorations clinico-radiologiques ultérieures pour appréhender au mieux son dépistage en pratique clinique et d'éventuelles pistes thérapeutiques.

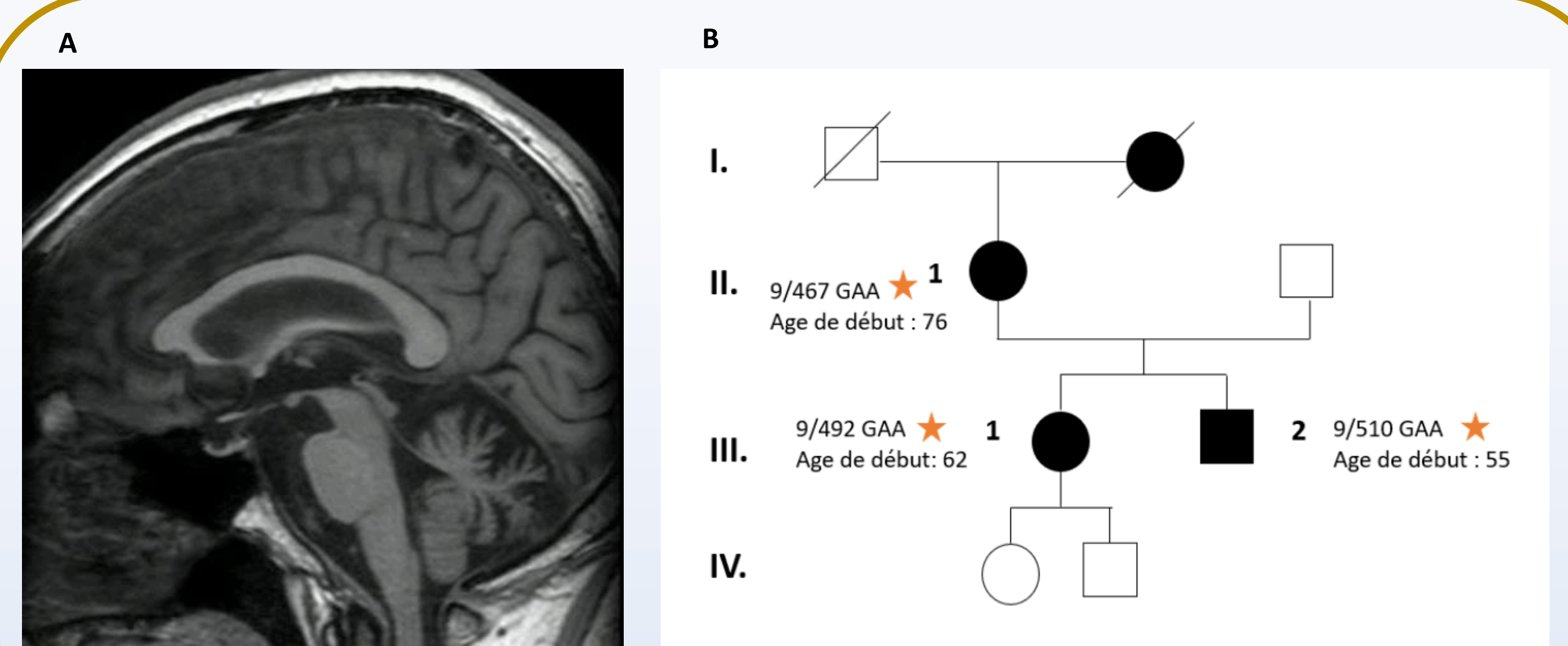


Figure 2 : A : IRM cérébrale T1 coupe sagittale d'un patient avec ataxie GAA-FGF14 montrant une atrophie cérébelleuse modérée prédominant sur le vermis B : Arbre généalogique d'une famille vosgienne montrant une expansion dans la lignée germinale féminine des triplets et une anticipation clinique de l'âge de début des symptômes. (Étoile orange : patients pour lesquels la recherche génétique a été effectuée).

RESULTATS

Identification de **9 patients positifs/53 (17%) porteurs d'une expansion ≥ 250 GAA sur FGF14 et de 2 apparentés**.

Caractéristiques génétiques :

Taille moyenne de l'expansion GAA : 381 ± 110

Caractéristiques cliniques (figure 3) :

- Transmission familiale majoritaire (64%) avec quelques cas sporadiques (4 cas, 36%)
- La majorité des patients présentaient une ataxie cérébelleuse de **début épisodique** (73%) débutant à l'âge de 64 ± 9 ans, puis dans un délai moyen de 2 ans s'installait une ataxie cérébelleuse permanente progressive de sévérité variable (score SARA moyen = 13,5/40 ± 11).
- En plus de son début épisodique, l'ataxie GAA-FGF14 se caractérisait par la présence d'un **nystagmus** (73% des cas), préférentiellement de type gazed evoked nystagmus horizontal ou downbeat nystagmus, d'une **diplopie binoculaire épisodique** (55%). L'atteinte axiale prédominait sur l'atteinte segmentaire en fréquence et en sévérité. Une aggravation des symptômes avec la prise d'alcool est retrouvée dans 63% des cas.
- Ataxie cérébelleuse **pure**, avec peu de syndrome pyramidal ou extrapyramidal associé.

Caractéristiques paracliniques (figure 2A) :

- IRM cérébrale** : Atrophie cérébelleuse légère à modérée dans 44% des cas, prédominant sur le vermis
- ENMG** : Réalisé chez 7/11 patients, normal ou subnormal dans 6 cas (86%) avec une patiente présentant une ganglionopathie.
- Dysautonomie orthostatique** : présente chez 1 patient / 7
- Montréal Cognitive Assessment (MoCA)** : 24 ± 6/30

Cas familial (1 patiente + 2 apparentés, figure 2B) :

Nous avons étudié la stabilité méiotique de l'expansion de la répétition GAA dans une famille vosgienne. La transmission d'un allèle expansé (GAA)₄₆₇ a entraîné une expansion dans la lignée germinale féminine lors de deux événements méiotiques (expansion de 467 triplets à 492 et 510 triplets pour les deux enfants). Une anticipation clinique a également été observée dans cette famille. Les patients III.1 et III.2 ont développé une ataxie épisodique plus de 10 ans avant leur mère, respectivement à 62 ans et 55 ans, alors que la patiente II avait débuté son ataxie GAA-FGF14 à l'âge de 76 ans.

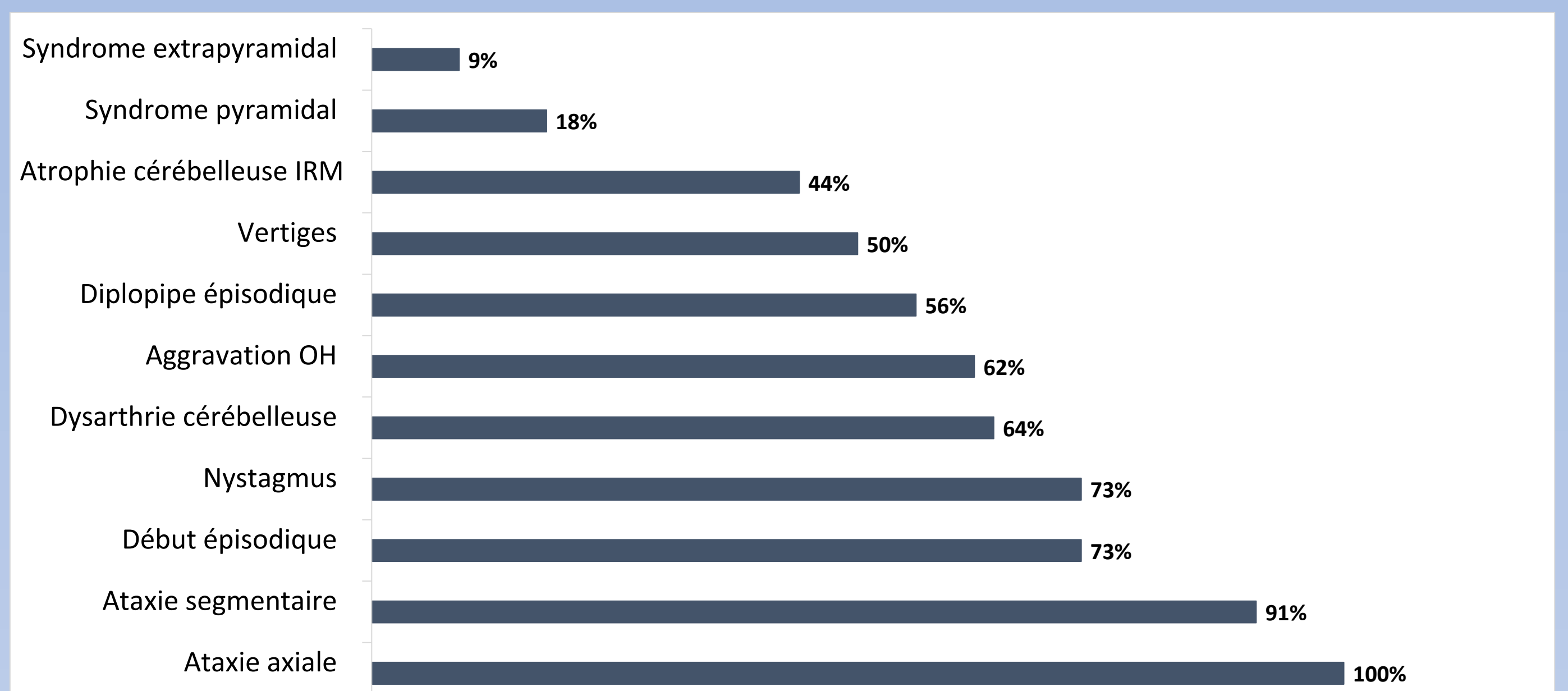


Figure 3 : Représentation graphique des principales caractéristiques cliniques des patients Nancéiens atteints d'ataxie GAA-FGF14