

Unité de Cardiogénétique et Myogénétique Moléculaire et Cellulaire
Service de biochimie B (Pr B Hainque)

Pr. B. HAINQUE (Chef de service) – Dr. P. RICHARD (Responsable d'unité) - Dr. D. STERNBERG (Praticien hospitalier) tél 01 42 17 76 54 ; e-mail: damien.sternberg@aphp.fr – Mmes P. BLONDY et A. LE BAIL (Techniciennes) tél 01 42 17 76 76 ; e-mail : canauxlabo.genetique@psl.ap-hop-paris.fr.

En collaboration avec le Centre de Référence des Canalopathies Musculaires (Pr Bertrand FONTAINE et Dr Savine VICART (savine.vicart@psl.aphp.fr), Département de Neurologie, Bâtiment Paul Castaigne, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, 47-83 boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris cedex 13 ; secrétariat et rendez-vous : 01 42 16 16 91)

NOTICE D'INFORMATION :
DEMANDES DE DIAGNOSTIC GENETIQUE MOLECULAIRE DES
PARALYSIES PERIODIQUES ET MYOTONIES NON DYSTROPHIQUES

Type de prélèvement et d'échantillon à adresser, mode de conservation et d'acheminement

Vous pouvez adresser soit un prélèvement sanguin, à partir duquel nous extrairons l'ADN au laboratoire, soit de l'ADN déjà extrait. Nous préférons recevoir un prélèvement sanguin et extraire nous-même l'ADN.

- si vous envoyez un prélèvement sanguin, il nous faut :

trois tubes de 5 ou 7 ml de sang prélevé sur EDTA (tubes à bouchon violet dans la série Beckton-Dickinson)

- si vous envoyez de l'ADN déjà extrait, il nous faut :

au moins **400 µl d'ADN dosé à 50 ng/µl (soit 20 µg d'ADN)**, ou une quantité équivalente

En attendant l'envoi, le prélèvement de sang doit être conservé à température ambiante, et l'échantillon d'ADN à 4°C.

Pour l'envoi, le prélèvement de sang ou l'échantillon d'ADN doivent être **envoyés à température ambiante, par transporteur, en moins de 48 heures.**

!!!Avertir le laboratoire par téléphone ou par e-mail au moment de l'envoi.

Adresse, numéros de téléphone, e-mail

Notre unité de diagnostic génétique moléculaire (responsable : Dr Pascale Richard) est située à l'intérieur du Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière.

Administrativement, nous faisons partie du service de Biochimie B de la Salpêtrière du Professeur Hainque, mais nous avons une adresse distincte.

Voici l'adresse à laquelle il faut adresser les prélèvements pour étude génétique (hors biopsies musculaires) ou le courrier adressé aux praticiens responsables concernant les maladies des canaux ioniques musculaires (paralysies périodiques et myotonies non dystrophiques) :

Unité de Cardiogénétique et Myogénétique
Fédération de Génétique (6-10 rue La Peyronie)
Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière
47-83 boulevard de l'Hôpital
75651 Paris cedex 13

Notez que le 6-10 rue La Peyronie est notre adresse interne dans l'Hôpital, et que l'adresse de l'Hôpital (47-83 boulevard de l'Hôpital) doit toujours être bien mentionnée pour les services postaux, qui ne connaissent pas la rue La Peyronie !

Nos numéros de téléphone et de fax sont les suivants :

Damien Sternberg : tel 01 42 17 76 54 (poste 77654 à l'intérieur de l'Hôpital)

Secrétariat : 01 42 17 76 64

Fax : 01 42 17 76 18

Laboratoire : 01 42 17 76 76

Préalables médicaux à l'exploration en génétique moléculaire

1) Nécessité de choix libre et éclairé du patient

Conformément à la législation sur les tests génétiques et à l'éthique médicale, il est nécessaire que le patient reçoive une information complète sur les tests génétiques qui sont envisagés pour lui, les résultats à en attendre, leurs implications en terme de diagnostic, de pronostic et d'intervention thérapeutique, ainsi que leurs implications familiales, en terme de conseil génétique pour lui, ou d'impact diagnostique chez ses apparentés. Il peut lui être proposé un délai de réflexion ou un entretien avec une psychologue spécialisée afin d'évaluer avec elle les enjeux de ces tests.

Le patient doit être libre de refuser ces tests, avec la certitude de pouvoir bénéficier, même s'il les refuse, d'une prise en charge d'égale qualité.

Un *consentement signé du patient* et une *attestation du prescripteur* doivent être joints au prélèvement afin de témoigner de l'information et du choix du patient.

2) Nécessité d'une bonne orientation clinique et paraclinique des tests

Pour les paralysies périodiques et les myotonies non dystrophiques, nous vous demandons de nous fournir les renseignements suivants:

- une *caractérisation précise des accès de paralysie ou des symptômes myotoniques (fiche de recueil de données RESOCANAUX à remplir)*

pour les accès de paralysies :

- âge aux premiers accès
- fréquence actuelle, évolution dans l'existence

- horaires et durée, facteurs déclenchants notés (exercice, repos prolongé, froid, repas, alcool, médicaments, etc..)
- dyskaliémie percritique éventuelle notée (hypo- ou hyperkaliémie)
- effet des tests de charge insuline-glucose ou de charge en potassium (si effectués)
- handicap généré
- traitements des accès et traitement de fond ; réponse aux traitements
- etc...

pour les symptômes myotoniques

- âge de début
- amélioration (« dérouillage ») ou aggravation à la répétition du mouvement
- accès de faiblesse ou de paralysie associés
- sensibilité au froid
- trophicité musculaire
- handicap généré
- etc...

- une **enquête familiale soigneuse** résumée sur un **arbre généalogique** :

- par l'interrogatoire du cas index
- si possible, par l'interrogatoire et l'examen clinique des parents et frères et soeurs
- au mieux, par un examen électromyographique des deux parents en plus de celui du cas index (en particulier, dans les suspicions de myotonie non dystrophiques, pour détecter d'éventuels porteurs asymptomatiques ayant une myotonie latente)

- résultat de la **recherche de cause secondaire** (pour les suspicions de paralysies périodiques)

- recherche de thyrotoxicose (dosage hormones T3, TSH)
- recherche de cause rénale d'hypokaliémie chronique ou paroxystique
- recherche de cause digestive
- recherche de cause médicamenteuse (prise de corticoïdes dans les jours précédant l'accès de paralysie)

- résultat de la **recherche de troubles du rythme cardiaque et de signes dysmorphiques pouvant faire évoquer un syndrome d'Andersen** (pour les suspicions de paralysie périodiques)

- recherche d'antécédents familiaux de mort subite
- notion d'épisodes de palpitations ou de tachycardie
- électrocardiogramme en dehors d'un accès de paralysie, calcul de l'intervalle QT corrigé, recherche d'une onde U
- recherche de signes dysmorphiques au niveau de la face (oreilles bas implantées, micrognathisme) et des extrémités (clinodactylie, syndactylie, raccourcissement des phalanges)

- résultat de **recherche diagnostique de dystrophie myotonique de type 1 (Steinert) ou de type 2 (PROMM)** par les examens cliniques et paracliniques à la recherche de signes associés ; en particulier notion de douleurs musculaires, anomalies à l'électrocardiogramme, cataracte détectée par examen ophtalmologique à la lampe à fente, résultat du diagnostic moléculaire de ces affections, en particulier recherche d'expansion de triplet et quadruplet aux locus DM1 et DM2 (**à rechercher systématiquement devant toute myotonie au moindre doute diagnostique**).

- un **électromyogramme du cas index réalisé selon le protocole spécifique décrit par Fournier et al.** (Fournier et al., Electromyography guides toward subgroups of mutations in muscle channelopathies. Ann Neurol 2004 56 :650-661 ; Fournier et al., Cold extends electromyography distinction between ion channel mutations causing myotonia, Ann Neurol 2006 60:356-365)
 - pour les paralysies périodiques, au minimum un test d'effort bref répété et un test d'effort long, à température ambiante
 - pour les myotonies non dystrophiques, au minimum un test d'effort bref répété à température ambiante **et** au froid

Nous nous tenons à votre disposition, par téléphone ou par e-mail, pour discuter avec vous des indications des explorations de génétique moléculaire chez votre patient, et des résultats à en attendre.

Documents administratifs à joindre à l'envoi

- **Copie du consentement signé par le patient et de l'attestation signée par le prescripteur (voir modèle en annexe)**
- **Bon de commande de votre institution** (les analyses génétiques ne sont pas facturables au patient mais seulement à une institution : hôpital, institut, etc...)

Principes de facturation

La facturation sera effectuée *en fonction des actes effectivement réalisés*, selon la cotation suivante :

Cotation des actes élémentaires de diagnostic moléculaire pratiqués dans le cadre de la Fédération de Génétique et de Cytogénétique de la Pitié-Salpêtrière (1 BHN = 0.27 euro).

<i>Acte</i>	<i>Cotation en BHN</i>	<i>Valeur en euros</i>
1 extraction d'ADN pour mise en banque	BHN 120	32.4
1 criblage par PCR-DHPLC	BHN 120	32.4
1 criblage par séquence d'un fragment dans les 2 sens	BHN 250	67.5

Pour le diagnostic moléculaire des paralysies périodiques et des myotonies non dystrophiques, les actes nécessaires au diagnostic et le montant de la facture sont habituellement les suivants* :

* 1) il s'agit du montant **maximum** à mentionner sur le bon de commande; si le détail des actes réalisés est moindre, une facture d'un montant inférieur sera envoyée ; 2) plusieurs de ces études peuvent être successivement réalisées pour un même patient jusqu'à obtention d'un résultat positif ou épuisement des différentes hypothèses diagnostiques

<i>Nom de l'étude</i>	<i>Actes facturés (maximum)</i>	<i>Total (BHN)</i>	<i>Total (euros)</i>
Paralysie périodique : recherche des mutations les plus fréquentes de CACNA1S et	Extraction PCR-séquence x 4 PCR-DHPLC x 9	2200	594

SCN4A			
Myotonie non dystrophique : étude de régions sélectionnées du gène SCN4A (première étape)	Extraction PCR-DHPLC x 9	1200	324.0
Myotonie non dystrophique ou Paralysie périodique : étude de l'ensemble des régions codantes du gène SCN4A (deuxième étape)	Extraction PCR-séquence x 24	6120	1652.4
Myotonie congénitale : étude de l'ensemble des régions codantes du gène CLCN1	Extraction PCR-séquence x 23	5870	1584.9
Paralysie périodique : recherche de Syndrome d'Andersen	Extraction PCR-séquence x 5	1370	369.9
Recherche d' une mutation déjà identifiée chez un cas index	Extraction Recherche directe 1 mutation	370	99.9
Recherche de deux mutations différentes déjà identifiées chez un cas index	Extraction Recherche directe 2 mutations	620	167.4

Explorations réalisées et résultats à en attendre

Les études comprendront au minimum les explorations suivantes :

Cadre diagnostique	Type de recherche	Gènes ou parties de gènes criblés (méthode)
Cas index, suspicion de paralysie périodique	Recherche mutation ponctuelle	<i>CACNA1S</i> , 4 exons comprenant l'ensemble des mutations décrites à ce jour (séquençage) <i>SCN4A</i> , 9 exons ou parties d'exons comprenant la grande majorité des mutations retrouvées de façon récurrente (DHPLC)
Cas index, suspicion de paramyotonie congénitale ou myotonie du canal sodium	Recherche mutation ponctuelle	<i>SCN4A</i> , 9 exons ou parties d'exons comprenant la grande majorité des mutations retrouvées de façon récurrente (DHPLC)
Cas index, suspicion de myotonie congénitale	Recherche mutation ponctuelle	<i>CLCN1</i> , ensemble des régions codantes et jonctions exon-intron réparties en 23 exons (séquençage)
Cas index, syndrome d'Andersen	Recherche mutation ponctuelle	<i>KCNJ2</i> , ensemble des régions codantes réparties sur un seul grand exon (séquençage)

Les techniques d'exploration utilisées sont des techniques de détection de mutation ponctuelle de bonne sensibilité (DHPLC, séquençage). L'efficacité des techniques de criblage est vérifiée à chaque série par l'analyse d'ADN témoins. Les mutations publiées dont la détection à l'état hétérozygote est assurée en routine sont les suivantes :

Cadre diagnostique	Mutation détectée (gène, région)
Cas index, suspicion	<i>CACNA1S</i> , exon 11, Arg528His et Arg528Gly

de paralysie périodique	<i>CACNA1S</i> , exon 30, Arg1239His et Arg1239Gly <i>SCN4A</i> , exon 12, mutations faux sens hétérozygotes des codons 669 et 672 <i>SCN4A</i> , exon 13, mutations faux-sens hétérozygotes du codon 675, mutations Ile693Thr, Thr704Met <i>SCN4A</i> , exon 24 partie (codons 1544-1613), mutation Met1592Val
Cas index, suspicion de paramyotonie congénitale ou myotonie du canal sodium	<i>SCN4A</i> , exon 9, DHPLC, mutation hétérozygote Val445Met <i>SCN4A</i> , exon 19, DHPLC, mutations faux-sens hétérozygotes du codon 1156 et 1160 <i>SCN4A</i> , exon 21, DHPLC, mutation hétérozygote Val1293Ile <i>SCN4A</i> , exon 22, DHPLC, mutations faux-sens hétérozygotes du codon 1306, mutation Thr1313Met <i>SCN4A</i> , exon 24 partie (codons 1431-1504), mutations faux-sens hétérozygotes du codon 1448 <i>SCN4A</i> , exon 24 partie (codons 1544-1613), mutation hétérozygote Val1589Met
Cas index, suspicion de myotonie congénitale	<i>CLCN1</i> , très nombreuses mutations ponctuelles diverses (faux-sens, non-sens, décalages de cadre de lecture, mutations des sites consensus d'épissage)
Cas index, syndrome d'Andersen	<i>KCNJ2</i> , mutations faux-sens diverses

Cette liste de mutation n'est pas limitative ; nos techniques sont susceptibles de mettre en évidence également des mutations rares ou originales dans les régions explorées.

Rendement diagnostique actuels des explorations effectuées chez les cas index dans les différents cadres diagnostiques (nombre de succès diagnostiques / nombre total de cas [plus ou moins bien caractérisés] adressés au laboratoire à ce jour) :

Motif d'envoi du prélèvement	Fréquence approximative avec laquelle la/les mutation(s) causale(s) est (sont) détectée(s)
Suspicion de paralysie périodique hypokaliémique	70 %
Suspicion de paralysie périodique autre qu'hypokaliémique	33 %
Suspicion de syndrome d'Andersen	55 %
Suspicion de paramyotonie congénitale ou de myotonie du canal sodium	62 %
Suspicion de myotonie congénitale (tableau typique)	80 %

Délais moyens de rendu du résultat pour les explorations de première intention

Cadre diagnostique	Délai moyen de rendu
Cas index, suspicion de paralysie périodique	4 mois
Cas index, suspicion de paramyotonie congénitale ou myotonie du canal	4 mois

sodium	
Cas index, suspicion de myotonie congénitale	<i>6 mois</i>
Cas index, syndrome d'Andersen	<i>4 mois</i>

Nota Bene : concernant les myotonies congénitales et l'exploration des régions codantes du gène CLCN1, certains points sont à noter :

- Une nette majorité des mutations caractérisées n'ont pas été rapportées auparavant, ce qui signifie qu'aucune donnée antérieure n'est disponible, en particulier sur leur caractère pathogène et leur effet récessif ou dominant.
- Il est **utile** de disposer des prélèvements des parents du cas index pour préciser la ségrégation des mutations, en particulier quand deux mutations hétérozygotes sont mises en évidence ;
- La détection d'une seule mutation hétérozygote ne permet pas à elle seule de conclure à un mode de transmission dominant ; une deuxième mutation peut échapper à l'analyse ; le statut (sain ou atteint) du parent hétérozygote pour la mutation détectée permettra de statuer entre effet récessif ou effet dominant de la mutation
- le conseil génétique dans les myotonies congénitales doit reposer en premier lieu sur l'enquête familiale aussi complète que possible pour trancher entre forme dominante et forme récessive de la maladie
- si le test génétique par analyse du gène CLCN1 est envisagé, il sera effectué en prélevant non seulement le cas index mais également ses parents et/ou d'autres apparentés sains, pour permettre une interprétation aussi exacte que possible des résultats du test
- il sera précisé au patient et à sa famille que les résultats du test pourront être complexes à interpréter : dans les cas les plus favorables, le ou les allèles mutés seront clairement caractérisés, et le mode de transmission clairement établi ; dans les cas moins favorables, le résultat partiel ou négatif du test n'apportera rien de plus que la simple enquête familiale.

Participation à l'étude RESOCANAUX

Il pourra être proposé au patient de participer à l'étude RESOCANAUX ; un consentement spécifique est nécessaire (voir notice spécifique).