



HAL
open science

Implication de trois régions chromosomiques soumises à empreinte dans l'obésité infantile (DLK1 ; H19-IgF2 ; SNRPN)

Isabelle Loge

► To cite this version:

Isabelle Loge. Implication de trois régions chromosomiques soumises à empreinte dans l'obésité infantile (DLK1 ; H19-IgF2 ; SNRPN). Médecine humaine et pathologie. 2013. dumas-00908866

HAL Id: dumas-00908866

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00908866v1>

Submitted on 25 Nov 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**THESE POUR LE
DOCTORAT EN MEDECINE**

(Diplôme d'Etat)

Par

LOGE Isabelle

Née le 08 mars 1983 à Caen (14)

Présentée et soutenue publiquement le 17 octobre 2013

**Implication de trois régions chromosomiques soumises à
empreinte dans l'obésité infantile (*DLK1 ; H19-IgF2 ; SNRPN*)**

Président du jury : Monsieur Le Pr Patrick TOUNIAN

Directeur de thèse : Madame Le Dr Béatrice DUBERN

Membres du jury : Madame le Pr Irène NETCHINE

Madame le Dr Mireille CASTANET

**THESE POUR LE
DOCTORAT EN MEDECINE**

(Diplôme d'Etat)

Par

LOGE Isabelle

Née le 08 mars 1983 à Caen (14)

Présentée et soutenue publiquement le 17 octobre 2013

**Implication de trois régions chromosomiques soumises à
empreinte dans l'obésité infantile (*DLK1 ; H19-Igf2 ; SNRPN*)**

Président du jury : Monsieur Le Pr Patrick TOUNIAN

Directeur de thèse : Madame Le Dr Béatrice DUBERN

Membres du jury : Madame le Pr Irène NETCHINE

Madame le Dr Mireille CASTANET

1

ANNEE UNIVERSITAIRE 2012 - 2013
U.F.R. DE MEDECINE-PHARMACIE DE ROUEN

DOYEN :	Professeur Pierre FREGER
ASSESEURS :	Professeur Michel GUERBET Professeur Benoît VEBER Professeur Pascal JOLY Professeur Bernard PROUST
DOYENS HONORAIRES :	Professeurs J. BORDE - Ph. LAURET - H. PIGUET - C. THUILLEZ
PROFESSEURS HONORAIRES :	MM. M-P AUGUSTIN - J.ANDRIEU-GUITRANCOURT - M.BENOZIO- J.BORDE - Ph. BRASSEUR - R. COLIN - E. COMOY - J. DALION - DESHAYES - C. FESSARD - J.P. FILLASTRE - P.FRIGOT - J. GARNIER - J. HEMET - B. HILLEMAND - G. HUMBERT - J.M. JOUANY - R. LAUMONIER - Ph. LAURET - M. LE FUR - J.P. LEMERCIER - J.P. LEMOINE - Mlle MAGARD - MM. B. MAITROT - M. MAISONNET - F. MATRAY - P.MITROFANOFF - Mme A. M. ORECCHIONI - P. PASQUIS - H.PIGUET - M.SAMSON - Mme SAMSON-DOLLFUS - J.C. SCHRUB - R.SOYER - B.TARDIF - TESTART - J.M. THOMINE - C. THUILLEZ - P.TRON - C.WINCKLER - L.M.WOLF

I - MEDECINE

PROFESSEURS

M. Frédéric ANSELME	HCN	Cardiologie
Mme Isabelle AUQUIT AUCKBUR	HCN	Chirurgie Plastique
M. Bruno BACHY	HCN	Chirurgie pédiatrique
M. Fabrice BAUER	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya BEKRI	HCN	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. Jacques BENICHOU	HCN	Biostatistiques et Informatique médicale
M. Jean-Paul BESSOU	HCN	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme Françoise BEURET-BLANQUART	CRMPR	Médecine physique et de réadaptation
M. Guy BONMARCHAND	HCN	Réanimation médicale
M. Olivier BOYER	UFR	Immunologie
M. Jean-François CAILLARD (<i>Sumombre</i>)	HCN	Médecine et santé au Travail
M. François CARON	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
M. Philippe CHASSAGNE	HB	Médecine interne (Gériatrie)
M. Vincent COMPERE	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
M. Alain CRIBIER (<i>Sumombre</i>)	HCN	Cardiologie
M. Antoine CUVELIER	HB	Pneumologie
M. Pierre CZERNICHOW	HCH	Epidémiologie, économie de la santé
M. Jean - Nicolas DACHER	HCN	Radiologie et Imagerie Médicale

LISTENSEZMKUPBAH2012-2013.doc

M. Stéfan DARMONI	HCN	Informatique Médicale/Techniques de communication
M. Pierre DECHELOTTE	HCN	Nutrition
Mme Danièle DEHESDIN	HCN	Oto-Rhino-Laryngologie
M. Jean DOUCET	HB	Thérapeutique/Médecine – Interne - Gériatrie.
M. Bernard DUBRAY	CB	Radiothérapie
M. Philippe DUCROTTE	HCN	Hépatologie – Gastro - Entérologie
M. Frank DUJARDIN	HCN	Chirurgie Orthopédique - Traumatologique
M. Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie - Chirurgie Orthopédique et Traumatologique
M. Bertrand DUREUIL	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mlle Héliène ELTCHANINOFF	HCN	Cardiologie
M. Thierry FREBOURG	UFR	Génétique
M. Pierre FREGER	HCN	Anatomie/Neurochirurgie
M. Jean François GEHANNO	HCN	Médecine et Santé au Travail
M. Emmanuel GERARDIN	HCN	Imagerie Médicale
Mme Priscille GERARDIN	HCN	Pédopsychiatrie
M. Michel GODIN	HB	Néphrologie
M. Philippe GRISE	HCN	Urologie
M. Didier HANNEQUIN	HCN	Neurologie
M. Fabrice JARDIN	CB	Hématologie
M. Luc-Marie JOLY	HCN	Médecine d'urgence
M. Pascal JOLY	HCN	Dermato - vénéréologie
M. Jean-Marc KUHN	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mme Annie LAQUERRIERE	HCN	Anatomie cytologie pathologiques
M. Vincent LAUDENBACH	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
M. Joël LECHEVALLIER	HCN	Chirurgie infantile
M. Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
M. Thierry LEQUERRE	HB	Rhumatologie
M. Eric LEREBOURS	HCN	Nutrition
Mlle Anne-Marie LEROI	HCN	Physiologie
M. Hervé LEVESQUE	HB	Médecine Interne
Mme Agnès LIARD-ZMUDA	HCN	Chirurgie Infantile
M. Pierre Yves LITZLER	HCN	Chirurgie Cardiaque
M. Bertrand MACE	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
M. Eric MALLET (<i>Surnombre</i>)	HCN	Pédiatrie
M. Christophe MARGUET	HCN	Pédiatrie
Mlle Isabelle MARIE	HB	Médecine Interne
M. Jean-Paul MARIE	HCN	ORL
M. Loïc MARPEAU	HCN	Gynécologie - obstétrique
M. Stéphane MARRET	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique MERLE	HCN	Epidémiologie
M. Pierre MICHEL	HCN	Hépatologie - Gastro - Entérologie
M. Francis MICHOT	HCN	Chirurgie digestive

M. Bruno MIHOUT (<i>Surnombre</i>)	HCN	Neurologie
M. Pierre-Yves MILLIEZ	HCN	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique
M. Jean-François MUIR	HB	Pneumologie
M. Marc MURAINÉ	HCN	Ophthalmologie
M. Philippe MUsETTE	HCN	Dermatologie - Vénérologie
M. Christophe PEILLON	HCN	Chirurgie générale
M. Jean-Marc PERON	HCN	Stomatologie et chirurgie maxillo-faciale
M. Christian PFISTER	HCN	Urologie
M. Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
M. Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire
M. Bernard PROUST	HCN	Médecine légale
M. François PROUST	HCN	Neurochirurgie
Mme Nathalie RIVES	HCN	Biologie et méd. du dévelop. et de la reprod.
M. Jean-Christophe RICHARD (<i>Mise en dispo</i>)	HCN	Réanimation Médicale, Médecine d'urgence
M. Horace ROMAN	HCN	Gynécologie Obstétrique
M. Jean-Christophe SABOURIN	HCN	Anatomie – Pathologie
M. Guillaume SAVOYE	HCN	Hépatologie – Gastro
Mme Céline SAVOYE – COLLET	HCN	Imagerie Médicale
M. Michel SCOTTE	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne TAMION	HCN	Thérapeutique
Mlle Florence TRIBAUT	HCN	Psychiatrie d'adultes
M. Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie
M. Christian THUILLEZ	HB	Pharmacologie
M. Hervé TILLY	CB	Hématologie et transfusion
M. François TRON (<i>Surnombre</i>)	UFR	Immunologie
M. Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive
M. Jean-Pierre VANNIER	HCN	Pédiatrie génétique
M. Benoît VEBER	HCN	Anesthésiologie Réanimation chirurgicale
M. Pierre VERA	C.B	Biophysique et traitement de l'image
M. Eric VERIN	CRMPR	Médecine physique et de réadaptation
M. Eric VERSPYCK	HCN	Gynécologie obstétrique
M. Olivier VITTECOQ	HB	Rhumatologie
M. Jacques WEBER	HCN	Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES

Mme Noëlle BARBIER-FREBOURG	HCN	Bactériologie – Virologie
M. Jeremy BELLIEU	HCN	Pharmacologie
Mme Carole BRASSE LAGNEL	HCN	Biochimie
Mme Mireille CASTANET	HCN	Pédiatrie
M. Gérard BUCHONNET	HCN	Hématologie
Mme Nathalie CHASTAN	HCN	Physiologie

LISTENSEMED/PLARM2012-2013.doc

Mme Sophie CLAEYSSENS	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
M. Moïse COEFFIER	HCN	Nutrition
M. Manuel ETIENNE	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
M. Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
Mme Catherine HAAS-HUBSCHER	HCN	Anesthésie - Réanimation chirurgicale
M. Serge JACQUOT	UFR	Immunologie
M. Joël LADNER	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
M. Jean-Baptiste LATOUCHE	UFR	Biologie Cellulaire
Mme Lucie MARECHAL-GUYANT	HCN	Neurologie
M. Thomas MOUREZ	HCN	Bactériologie
M. Jean-François MENARD	HCN	Biophysique
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et Biologie moléculaire
M. Vincent RICHARD	UFR	Pharmacologie
M. Francis ROUSSEL	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire TOBENAS-DUJARDIN	HCN	Anatomie

PROFESSEUR-AGREGE-OU-CERTIFIE

Mme Dominique LANIEZ	UFR	Anglais
Mme Cristina BADULESCU	UFR	Communication

II - PHARMACIE

PROFESSEURS

M. Thierry BESSON	Chimie Thérapeutique
M. Jean-Jacques BONNET	Pharmacologie
M. Roland CAPRON (PU-PH)	Biophysique
M. Jean COSTENTIN (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
M. Loïc FAVENNEC (PU-PH)	Parasitologie
M. Jean Pierre GOULLE	Toxicologie
M. Michel GUERBET	Toxicologie
M. Olivier LAFONT	Chimie organique
Mme Isabelle LEROUX	Physiologie
Mme Martine PESTEL-CARON (PU-PH)	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
M Jean-Marie VAUGEOIS	Pharmacologie
M. Philippe VERITE	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES

Mlle Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
Mme Dominique BOUCHER	Pharmacologie
M. Frédéric BOUNOURE	Pharmacie Galénique
M. Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
M. Jean CHASTANG	Biomathématiques
Mme Marie Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Elizabeth CHOSSON	Botanique
Mlle Cécile CORBIERE	Biochimie
M. Eric DITMAR	Biophysique
Mme Nathalie DOURMAP	Pharmacologie
Mlle Isabelle DUBUC	Pharmacologie
Mme Roseline DUCLOS	Pharmacie Galénique
M. Abdelhakim ELOMRI	Pharmacognosie
M. François ESTOUR	Chimie Organique
M. Gilles GARGALA (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Najia GHARBI	Chimie analytique
Mlle Marie-Laure GROULT	Botanique
M. Hervé HUE	Biophysique et Mathématiques
Mme Laetitia LE GOFF	Parasitologie Immunologie
Mme Hong LU	Biologie

Mme Sabine MENAGER	Chimie organique
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie
M. Paul MULDER	Sciences du médicament
M. Mohamed SKIBA	Pharmacie Galénique
Mme Malika SKIBA	Pharmacie Galénique
Mme Christine THARASSE	Chimie thérapeutique
M. Rémi VARIN (MCU-PH)	Pharmacie Hospitalière
M. Frédéric ZIEGLER	Biochimie

PROFESSEUR ASSOCIE

Mme Sandrine PANCHOU	Pharmacie Officinale
-----------------------------	----------------------

PROFESSEUR CONTRACTUEL

Mme Elizabeth DE PAOLIS	Anglais
--------------------------------	---------

ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

M. Mazim MEKAOUI	Chimie Analytique
Mlle Virginie OXARAN	Microbiologie

III – MEDECINE GENERALE

PROFESSEURS

M. Jean-Loup HERMIL	UFR	Médecine générale
---------------------	-----	-------------------

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS :

M. Pierre FAINSILBER	UFR	Médecine générale
M. Alain MERCIER	UFR	Médecine générale
M. Philippe NGUYEN THANH	UFR	Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS :

M Emmanuel LEFEBVRE	UFR	Médecine générale
Mme Elisabeth MAUVIARD	UFR	Médecine générale
Mme Marie Thérèse THUEUX	UFR	Médecine générale

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique DELAFONTAINE

HCN - Hôpital Charles Nicolle

HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME

CB - Centre HENRI BECQUEREL

CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray

CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation

LISTENSEMEDFARM2013.doc

LISTE DES RESPONSABLES DE DISCIPLINE

Melle Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
M. Thierry BESSON	Chimie thérapeutique
M. Roland CAPRON	Biophysique
M Jean CHASTANG	Mathématiques
Mme Marie-Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation, Economie de la Santé
Mlle Elisabeth CHOSSON	Botanique
M. Jean-Jacques BONNET	Pharmacodynamie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
M. Loïc FAVENNEC	Parasitologie
M. Michel GUERBET	Toxicologie
M. Olivier LAFONT	Chimie organique
Mme Isabelle LEROUX-NICOLLET	Physiologie
Mme Martine PESTEL-CARON	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
M. Mohamed SKIBA	Pharmacie Galénique
M. Philippe VERITE	Chimie analytique

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS**MAITRES DE CONFERENCES**

M. Sahil ADRIOUCH	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
Mme Gaëlle BOUGEARD-DENOYELLE	Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
Mme Carine CLEREN	Neurosciences (Néovasc)
Mme Pascaline GAILDRAT	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
M. Antoine OUVRARD-PASCAUD	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mme Isabelle TOURNIER	Biochimie (UMR 1079)

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

M. Serguei FETISSOV	Physiologie (Groupe ADEN)
Mme Su RUAN	Génie Informatique

Par délibération en date du 3 mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A Monsieur le Professeur Patrick TOUNIAN,

Qui m'a fait l'honneur de présider ce jury.

Veillez trouver ici l'expression de ma profonde et respectueuse reconnaissance pour m'avoir permis de réaliser ce travail.

A Madame le Docteur Béatrice DUBERN,

Pour avoir accepté de diriger ce travail.

Un grand merci d'avoir partagé cette épreuve avec moi et de m'avoir aidée tout au long de ce travail.

A Madame le Professeur Irène NETCHINE,

Vous me faites l'honneur de juger ce travail, je vous remercie pour votre aide dans l'élaboration de ce projet. Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

A Madame le Docteur Mireille CASTANET,

Vous me faites l'honneur de juger ce travail, veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

Un grand merci,

Aux médecins praticiens hospitaliers du service de pédiatrie générale et de réanimation de l'hôpital Charles Nicolle,

Monsieur le Professeur Marguet, pour votre enseignement et votre suivi.

Monsieur le Professeur Marret, pour votre enseignement et votre disponibilité.

Monsieur le Dr Mouterde pour votre disponibilité, vos conseils précieux et la qualité de votre enseignement.

Clémentine pour ta bonne humeur et ta gentillesse.

Ioana, pour ta gentillesse, ta patience et ton aide précieuse lors de ces derniers mois.

Aurélié et Sophie pour votre soutien et votre disponibilité.

A mes chefs de clinique

Céline pour m'avoir vue débiter aux nourrissons.

Philippe pour ta disponibilité, la qualité de ton enseignement et ton soutien en médecine V.

Clément, Gaëlle et Vincent pour votre bonne humeur et votre disponibilité.

A Julie et Vincent, pour votre accueil chaleureux à Paris.

A Madame Steunou, pour la réalisation des manipulations nécessaires à ce travail. Merci d'avoir été aussi disponible.

A mes co-internes,

Stéphanie pour tous ces très bons moments partagés au DIU et pour notre intérêt commun pour la gastro pédiatrie.

Maud et Elsa pour tous ces moments partagés.

Dorothée pour ta bonne humeur et ton soutien.

Noémie et Aurélie la fine équipe des nourrissons.

Mathilde pour avoir débuté avec moi.

Mais aussi à Sophie, Juliette, Alexandre, Florie, Lena, Olivier

Et Céline, Simon et Madeleine pour m'avoir soutenue lors des ces 6 derniers mois.

A mes Amis,

Carla et Delphine sans qui Rouen ne serait rien. A tous nos petits dîners entre filles mais aussi nos soirées Rouennaises et toutes nos séances de bavardage sur les vélos.

Caro, Delphine et Fanny pour votre soutien pendant toutes nos études et pour être présentes depuis la première année. Car votre amitié m'est très précieuse.

A Corinne et Vincent, Céline, Diane, Cécile, Eglantine pour votre amitié.

A ma Famille,

Papa, pour qui l'amour et le soutien ont été essentiels tout au long de ces études. Pour m'avoir donné envie d'être médecin.

Maman, à qui je dédie ce travail. Ton amour m'accompagne tous les jours.

François Régis, Pierre et Ludovic, pour toutes ces années partagées. Merci d'être en toutes circonstances à mes côtés.

Emilie, parce que je te considère comme une sœur et ma meilleure amie. Pour tous les moments partagés avec toi qui font partie de mes meilleurs souvenirs.

Angélique et Céline pour leur courage de faire partie de notre famille, et votre présence à mes côtés pendant ces années.

Louis, Iris et Ariane pour vos beaux sourires et tous ces moments joyeux qu'on passe avec vous.

Mes grands parents, qui ont toujours cru en moi.

A Vincent, pour ton amour et pour avoir autant fait don de toi pendant la réalisation de ce travail.

Table des matières	19
I. Remerciements	12
II. Abréviations	20
III. Tableaux et Figures	22
1 Introduction	23
1.1. Obésité	23
1.2. Epigénétique	25
1.3. Le syndrome de Silver Russell : un modèle clinique de pathologie épigénétique	27
1.4. Le gène <i>DLK1</i>	32
2 Matériels et Méthodes	38
2.1 Population	38
2.2 Allele Specific Methylation Multiplex Real-Time Quantitative PCR (ASMM RTQ-PCR).	39
3 Résultats	42
3.1. A partir de 2 observations.	42
3.1.1. Observation n°1	42
3.1.2. Observation n°2	46
3.2. Etude de la méthylation des gènes <i>DLK1, H19/IGF2</i> et <i>SNRPN</i>.	50
3.2.1. Description de la population	50
3.2.2. Etude de la méthylation	54
3.3. Description du patient porteur d'une anomalie de méthylation de <i>DLK1</i> (cas n°2).	55
3.4 Comparaison des 3 observations	58
4 Discussion	59
IV. Bibliographie	64
V. Annexe	68
VI. Résumé et mots clés	69

II/ ABBREVIATIONS :

ASMM RTQ-PCR : Allele-Specific Methylated Multiplex real-time Quantitative PCR.

DHEA sulfate : delta4-andostènedione.

DLK1 : delta-like 1 homolog.

DS : Déviation standard.

GH : Hormone de croissance.

GRB10 : growth factor receptor-bound protein 10.

HGPO : hyperglycémie provoquée par voie orale.

HOMA : Homeostasis Model Assessment.

ICR : Imprinting center Region.

IG : intolérance glucidique.

IGF : Insulin-like growth factor.

IGFBP-3: Insulin-like growth factor-binding protein 3.

IMC : Indice de masse corporelle.

IOTF : International Obesity Task Force.

MEG : Maternally Expressed Gene.

MEST : mesoderm specific transcript homolog.

MG : Masse grasse.

mUPD7 : Disomie uniparentale maternelle du chromosome 7.

mUPD14 : Disomie uniparentale maternelle du chromosome 14.

PAG : petit âge gestationnel.

PCN : Périmètre crânien de naissance.

PN : Poids de naissance.

PpT : Rapport poids pour taille.

pUPD14 : Disomie uniparentale paternelle du chromosome 14.

PWS : Prader -Willi syndrome.

RCIU : Retard de croissance intra utérin.

RTL1 : Retrotransposon Like 1.

RTLias : Retrotransposon Like 1 antisense.

SA : Semaine d'aménorrhée.

SNP : single nucleotide polymorphism.

SSR : Syndrome de Silver-Russel.

SWB: Syndrome de Wiedemann- Beckwith.

TN : Taille de naissance.

TpA : Rapport taille pour âge.

TT : Tour de Taille.

III/ TABLEAUX ET FIGURES :

- **Figure 1**: Schéma des anomalies moléculaires sur le chromosome 11p15 mises en cause dans le syndrome de Silver Russell.
- **Figure 2** : Scores diagnostiques proposés pour le syndrome de Silver Russell.
- **Figure 3** : Proposition d'algorithme pour le diagnostic de syndrome de Silver Russell.
- **Figure 4**: Vue schématique de la région 14q32 soumise à empreinte
- **Figure 5** : Photo d'un enfant présentant une disomie uniparentale maternelle du chromosome 14 (mUPD 14).
- **Figure 6** : Schématisation de la technique : Allele-Specific Methylated Multiplex real-time Quantitative PCR (ASMM RTQ-PCR).
- **Figure 7** : Courbes statur pondérale (7a) et d'indice de masse corporelle (IMC) (7b) de la patiente ayant une épimutation du chromosome 14 (observation n°1).
- **Figure 8** : Courbes de croissance statur pondérale (8a) et d'Indice de masse corporelle (IMC) (8b) de la patiente ayant une hypométhylation au niveau de la région 11p15 (*H19/IGF2*) (observation n°2).
- **Figure 9** : Index de méthylation des gènes soumis à empreinte sur les chromosomes 14 (*DLK1*) et 11 (*H19* promoteur, *ICR1 H19/ICR2*, *DMR0 IGF2*) et sur les gènes *SNRPN-SNRNF* impliqués dans le syndrome de Prader Willi.
- **Figure 10**: Courbes de croissance statur pondérale (10a) et d'indice de masse corporelle (IMC) (10b) du patient diagnostiqué avec épimutation du chromosome 14 (cas n°2).
- **Tableau 1** : Epimutations du chromosome 14 décrites dans la littérature.
- **Tableau 2** : Description de la population étudiée.
- **Tableau 3** : Paramètres métaboliques des 15 sujets étudiés
- **Tableau 4** : Synthèse.

V/ ANNEXE :

- **Annexe 1** : Courbes de corpulence françaises et seuils de l'IOTF pour les garçons

1/ INTRODUCTION :

1.1 : L'obésité :

L'obésité est caractérisée par un excès de masse grasse (1). Elle se définit chez l'enfant par un indice de masse corporelle (IMC) supérieur au 97^{ème} percentile pour l'âge et le sexe. Les courbes IOTF 25 et IOTF 30 établies en 2000, à partir de données recueillies dans plusieurs pays, par l'International Obesity Task Force (IOTF), ont permis de distinguer 2 degrés de surcharge pondérale. En effet, les seuils définissant le surpoids et l'obésité sont constitués par les centiles IOTF 25 et IOTF 30, qui aboutissent respectivement aux valeurs de 25 et 30 kg/m² à 18 ans. En pratique, le surpoids est défini par un IMC supérieur au 97^{ème} percentile et inférieur à la courbe IOTF 30 et l'obésité par un IMC supérieur à la courbe IOTF 30 (Annexe 1).

L'obésité résulte d'un déséquilibre de la balance énergétique et évolue en deux phases : la phase dynamique, correspondant à la constitution de la surcharge pondérale, suivie de la phase statique au cours de laquelle l'excès pondéral acquis reste stable. Les déterminants à l'origine de ce déséquilibre de la balance énergétique sont multiples et leur interaction est indispensable pour conduire à l'obésité.

Les facteurs génétiques jouent un rôle central. L'importance de ces facteurs dans la capacité d'un individu à prendre du poids sous l'effet de facteurs environnementaux a d'ailleurs été illustrée par les expériences de suralimentation de jumeaux monozygotes. En effet, lorsque des paires de jumeaux ayant le même patrimoine génétique sont soumises à une suralimentation identique (1000 kcal/j pendant 100 jours), la variance de la prise de poids est près de 3 fois plus importante d'une paire de jumeaux à l'autre (4 à 13 kg) qu'au sein d'une même paire de jumeaux (± 2 kg) (1). Ceci démontre que les mêmes facteurs

environnementaux peuvent avoir des effets très variables d'un individu à l'autre selon sa susceptibilité génétique à devenir obèse.

La contribution de la génétique peut être schématisée à ce jour de la façon suivante (1) :

- 1) présence d'une mutation unique et rare dans des gènes clé du contrôle de la prise alimentaire (*obésité monogénique par mutation d'un des gènes de la voie leptine/mélanocortines*). Ces obésités sont rares, souvent très sévères et débutent généralement dans l'enfance. Elles sont le plus souvent associées à des anomalies endocriniennes et à une impulsivité alimentaire majeure.
- 2) présence de plusieurs variants géniques en interaction avec un environnement à risque (*obésité polygénique*). Dans ce cas, chaque gène de susceptibilité pris individuellement aurait des effets plus ou moins importants sur le poids, et c'est la contribution cumulative de ces gènes qui ne deviendrait significative qu'en interaction avec des facteurs environnementaux prédisposant à leur expression phénotypique (suralimentation, baisse de l'activité physique). C'est le cas des obésités dites communes.

Les autres déterminants sont environnementaux et leur interaction avec les facteurs génétiques est indispensable pour conduire au déséquilibre de la balance énergétique aboutissant à l'obésité. Ces facteurs environnementaux comprennent :

- 1) des *déterminants précoces pré et postnataux* au cours desquels des phénomènes épigénétiques jouent probablement un rôle clé (tabagisme maternel, diabète gestationnel, allaitement maternel...);
- 2) des *déterminants sociétaux* : l'industrialisation, les progrès technologiques, et le développement des moyens de communication des dernières décennies ont de toute évidence procuré des conditions idéales pour permettre l'expression phénotypique de l'obésité. Le mode d'alimentation (densité calorique des repas, disponibilité de la

nourriture) et le niveau d'activité physique (motorisation, sédentarisation) ont en effet été tous deux bouleversés ces dernières décennies.

3) des *déterminants psychologiques* : le divorce des parents, un décès dans la famille, un changement de mode de vie, des soucis à l'école peuvent ainsi provoquer une dysrégulation du contrôle de la balance énergétique et conduire à un excès pondéral. Ils constituent rarement la cause exclusive de l'obésité. Ils sont le plus souvent un facteur déclenchant qui révèle ou aggrave une prédisposition à l'obésité.

1.2 : Epigénétique.

Le terme épigénétique a été proposé par le généticien Conrad Waddington dans les années 40 pour rendre compte des relations génotype et phénotype. Puis, en 1994, R.Holliday a élargi la notion d'épigénétique dans son sens actuel à l'« Étude des changements dans l'expression des gènes qui sont héréditaires lors de la mitose et/ou de la méiose, et qui ne résultent pas de modifications de la séquence de l'ADN » (2). Les gènes soumis à empreinte parentale sont un des exemples de mécanismes épigénétiques modulant l'expression des gènes.

Les gènes soumis à empreinte génomique parentale ont une expression mono-allélique et spécifique de l'origine parentale. Quand un gène soumis à empreinte s'exprime, un seul des deux allèles est actif en fonction de l'origine parentale du chromosome qui le porte. Il peut donc être exprimé soit à partir du chromosome maternel, c'est à dire que seul l'allèle maternel est actif, soit à partir du chromosome paternel, auquel cas seul l'allèle paternel est actif. Le challenge pour la cellule est alors de reconnaître les allèles maternels et paternels comme tels. En vue de cette reconnaissance, les régions chromosomiques soumises à empreinte portent des marques spécifiques de leur origine parentale. Bien que la nature de ces marques de distinction ne soit pas complètement comprise, on sait qu'il s'agit des marques épigénétiques,

c'est à dire qu'elles n'affectent pas la séquence de l'ADN, mais agissent essentiellement sur la configuration de la chromatine. Les marques les mieux connues et dont on sait qu'elles sont impliquées dans la mécanistique de l'empreinte, sont la méthylation de l'ADN, les modifications post traductionnelles des histones et la présence d'ARN non-codants (3).

L'apposition de l'empreinte a lieu pendant la gamétogénèse avant la fécondation. La méthylation d'un doublet cytosine guanine au niveau d'une région promotrice entraîne une modification de la conformation spatiale de l'ADN. La méthylation est alors capable de réprimer l'expression génique en inhibant la fixation de facteurs de transcription qui ne reconnaissent plus leur séquence consensus lorsque celle-ci est méthylée. Un des événements majeurs largement impliqué dans la régulation de l'expression de certains gènes est le contrôle de l'état de compaction de la chromatine. En effet, l'accessibilité des gènes par les différents complexes de transcription dépend directement du niveau d'assemblage de l'ADN avec les protéines histones soit en hétérochromatine (condensée) soit en euchromatine (moins dense). Ces différences de compaction sont dues en grande partie aux modifications des histones, et principalement aux variations de leur niveau d'acétylation sous la dépendance des histone-acétylases et histone-désacétylases. La désacétylation des histones entraîne ainsi une compaction de la chromatine et une répression de l'activité du gène en empêchant l'accès aux facteurs de transcription avec répression de la transcription.

Chez l'homme, plus de 100 gènes sont connus pour être soumis à empreinte parentale. Ils sont principalement groupés dans des régions chromosomiques telles que les régions 11p15.5, 7q32.2 ou 14q32.

1.3 : Le syndrome de Silver Russell : un modèle clinique de pathologie épigénétique.

Le syndrome de Silver Russell (SRS, ONIM 180860) a été initialement décrit par Silver et Russell en 1953 (4), (5). L'incidence de cette pathologie varie entre 1 sur 50 000 à 100 000 naissances, mais sa fréquence réelle n'est pas connue. Sur le plan génétique, les 3 principaux types d'altérations moléculaires identifiés sont :

- une hypométhylation dans la région 11p15 soumise à empreinte (ICR1) dans environ 30-60 % des cas (6).
- une disomie uniparentale maternelle du chromosome 7 (mUPD 7) retrouvée dans 7 à 10 % des cas.
- Et dans 1 à 2 % des cas, des anomalies chromosomiques infra microscopiques (7).

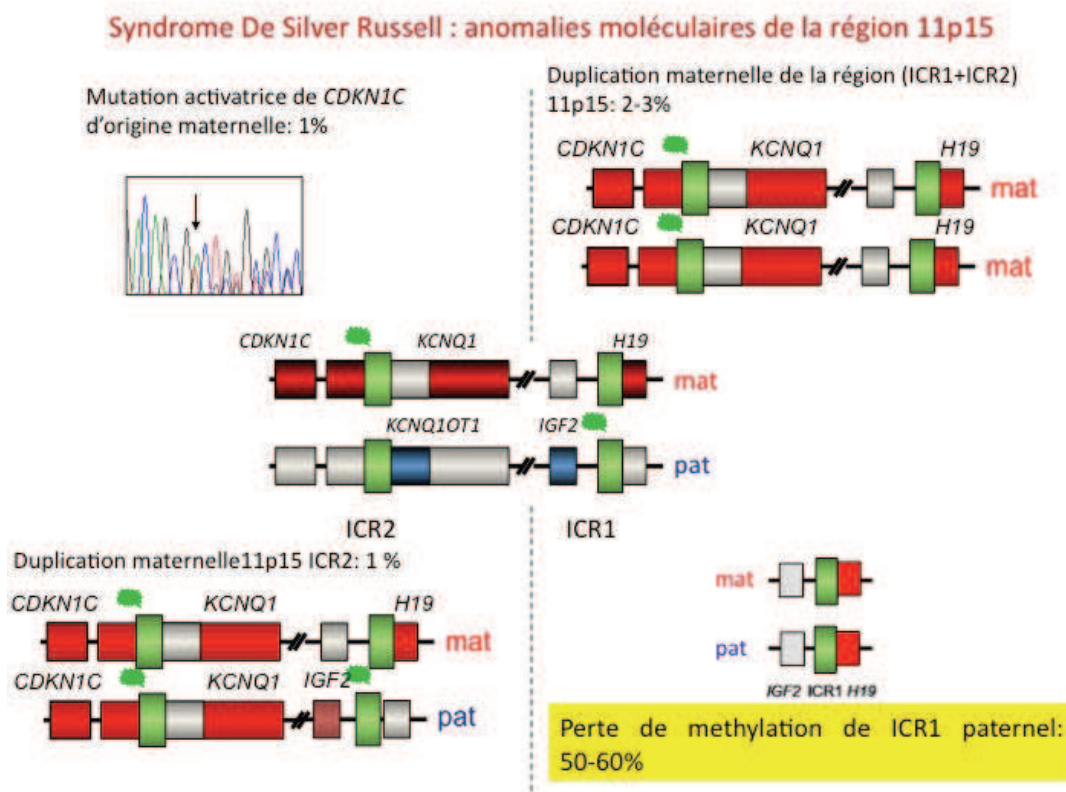
La région chromosomique 11p15 (Figure 1) contient un groupe de gènes soumis à empreinte et en particulier des gènes impliqués dans le système des IGFs (Insulin Growth Factor) largement connu pour son rôle dans la croissance fœtale (8). Ce groupe inclut des gènes à expression paternelle (*IGF2* et *KCNQ1OT1*) et des gènes à expression maternelle (*CDKN1C* et *H19*) sous le contrôle de promoteurs (imprinting center region ou ICR). La partie télomérique du promoteur ICR1 régule ainsi l'expression de *IGF2* et *H19* alors que la région centromérique du promoteur ICR2 régule l'expression de *CDKN1C* et *KCNQ1OT1* (9). Une hypométhylation au niveau du promoteur ICR1 est la principale anomalie (environ 50 % des cas) identifiée dans le SSR (10). La duplication maternelle 11p15 et la disomie uniparentale maternelle mUPD 11 sont beaucoup plus rares.

En dehors du SSR, d'autres syndromes sont associés à des anomalies dans le système des IGFs comme le syndrome de Wiedemann-Beckwith (SWB). A l'inverse du SSR, il est

caractérisé par une croissance fœtale excessive. Cliniquement, les nouveau-nés sont macrosomes avec une organomégalie, une hémihypertrophie, un omphalocèle et un risque de tumeur augmenté. Ce syndrome est dû à une répression des gènes à expression maternelle et/ou une surexpression des gènes à expression paternelle incluant *IGF2* sur la région 11p15 (6) et constitue le miroir du SSR.

La disomie uniparentale mUPD 7 a été la première anomalie identifiée dans le SSR. Cependant, les gènes ou les régions impliqués dans le phénotype de SSR sont mal connus. Certains des gènes localisés sur le chromosome 7 sont impliqués dans la régulation de la croissance de l'enfant et ont une expression soumise à empreinte parentale (6). Certains gènes candidats ont été étudiés comme *GRB10* (growth factor receptor-bound protein 10) (11) et *MEST* (mesoderm specific transcript homolog). Aucun n'a été identifié comme formellement associé au SSR (12).

Figure 1: Schéma des anomalies moléculaires sur le chromosome 11p15 mises en cause dans le syndrome de Silver-Russell.
(Pr I. Netchine).



Sur le plan clinique, le SSR est très hétérogène. Il concerne des enfants ayant un retard de croissance intra utérin (RCIU) sévère défini par un poids et/ou une taille de naissance inférieure à - 2 déviations standards (DS) sans rattrapage staturo-pondéral post natal, associé à une macrocéphalie relative, une dysmorphie faciale avec un visage triangulaire, un menton étroit et un front proéminent, et une asymétrie corporelle (13). D'autres critères mineurs ont été décrits comme une clinodactylie du cinquième doigt, des taches café au lait, des malformations génitales, des hypoglycémies sévères, une sclérotique bleue, une transpiration excessive et des difficultés d'alimentation dans la petite enfance (14). Actuellement, aucune définition clinique consensuelle n'existe et le diagnostic est fait sur un faisceau d'arguments. Plusieurs scores cliniques ont été proposés afin de faciliter le diagnostic (15),(16), (9),(17), (18). (Figure 2).

Figure 2 : Scores diagnostiques proposés pour le syndrome de Silver Russell.

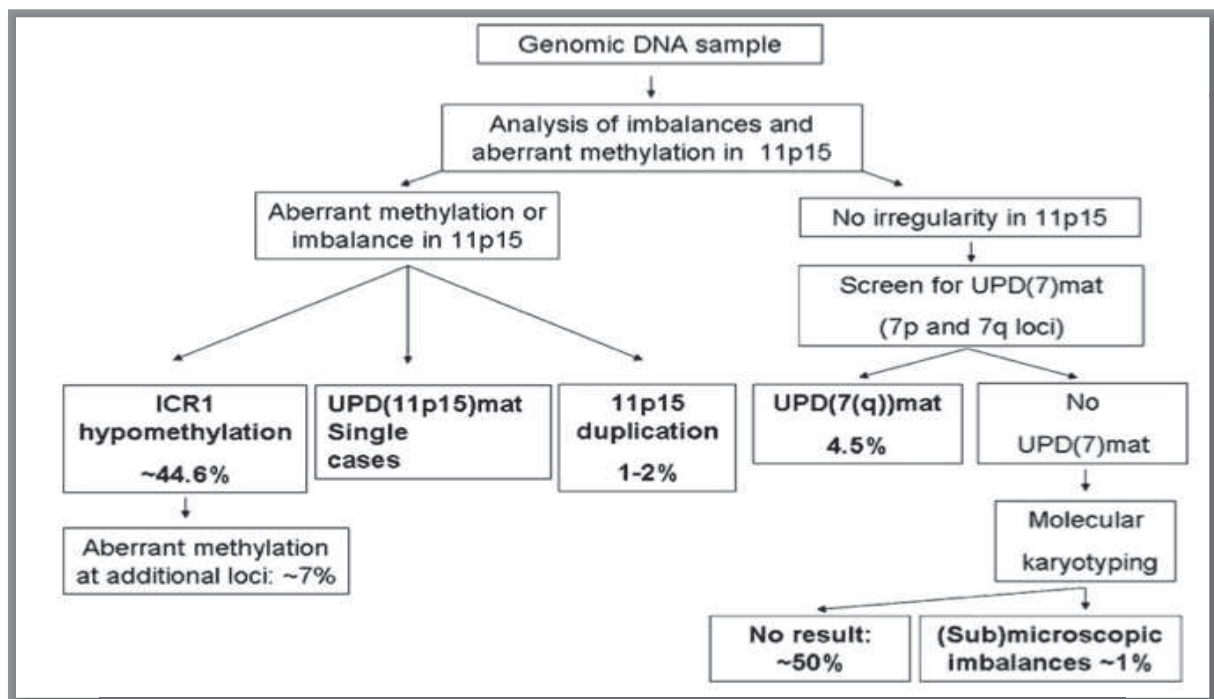
(Hoffmann K, Heller R, Phil D. « Uniparental disomies 7 and 14 ». *Best practice and research clinical endocrinology and metabolism* 2011;77-100)

Diagnostic scores for Silver-Russell syndrome (SRS)			
Price et al., 1999 ³⁹	Netchine et al., 2007 ⁴⁰	Bartholdi et al., 2009 ⁴¹	Eggermann et al., 2009 ⁴²
Original diagnostic score for classical SRS 4 out of 5 criteria :	Weighted diagnostic score for classical SRS Birth weight ≤ 2.3%ile and 3 out of 5 criteria :	SRS severity score, maximum of 15 points ≥ 8 points required for SRS :	Relaxed diagnostic score to include SRS-like phenotypes
Birth weight ≤ 2.3%ile	Birth weight ≤ 2.3%ile	1pt = birth weight ≤ 10th centile 1pt = birth length ≤ 10th centile 1pt = rel. macrocephaly at birth	pre- and postnatal growth retardation (may be mild)
Postnatal growth ≤ 2.3%ile	Postnatal growth ≤ 2.3%ile	1pt = no catch up growth, height ≤ 3rd centile	
OFC within and parallel to normal percentiles	Relative macrocephaly at birth	1pt = OFD ≥ 3rd and ≤ 97th centile	and
Characteristic facial dysmorphism	Prominent forehead	1pt = triangular shaped face 1pt = prominent forehead 1pt = small chin or thin lips or late closure of fontanelle or ...	prominent forehead and triangular face
Physical asymmetry	Physical asymmetry	3pts = physical asymmetry (face/limb/body)	or physical asymmetry
	Severe feeding difficulties or BMI ≤ 2.3%ile	*	
		1pt = attending regular school 1pt = 5th digit clinodactyly 1pt = genital abnormalities 1pt = others (e.g. pigmentary anomalies)	

* feeding problems, hypoglycaemia, excessive sweating were considered characteristic for SRS, but omitted because of unreliable reporting.

Seule la recherche des anomalies moléculaires décrites dans le SSR (hypométhylation de la région 11p15 et mUPD 7) permet de confirmer le diagnostic dans la mesure où les critères cliniques ne sont pas spécifiques. Elles ne sont cependant retrouvées que dans environ 2/3 des cas de SSR suspectés cliniquement. Pour les 30% restants d'enfants suspects de SSR sans anomalie moléculaire identifiée, les recherches sont toujours en cours afin d'identifier d'autres gènes ou régions chromosomiques impliquées. Un algorithme de test moléculaire complet (figure 3) a été récemment proposé afin de confirmer le diagnostic clinique subjectif du SSR et d'identifier l'altération moléculaire en cause (13).

Figure 3 : Proposition d'algorithme pour le diagnostic de syndrome de Silver Russell (Eggermann T. « Genetics of Silver Russell syndrome ». John Wiley and sons, 2012.



(MSA : microstellite analysis ; MLPA : multiplex ligation probe-dependent amplification ; FISH, fluorescence in situ hybridisation).

Sur le plan clinique, des variations dans le phénotype peuvent être observées selon l'anomalie chromosomique identifiée. Ainsi, les patients avec hypométhylation de ICR1 ont un phénotype dit « classique ». Ils ont plus souvent une asymétrie corporelle, une clinodactylie du 5^{ème} doigt et des anomalies congénitales (cardiopathie congénitale, fente palatine, anomalies génitales masculines) (19). Les patients avec une mUPD7 ont un phénotype moins sévère et notamment un RCIU moins marqué et non présent pour tous les enfants, même s'il reste très fréquent (9). Les difficultés d'apprentissage sont, quant à elles, plus souvent décrites avec recours à des séances d'orthophonie par exemple, (19) ainsi que le risque de développer une dystonie musculaire ou des troubles autistiques dans l'enfance (20). La perte de méthylation est aussi un phénomène graduel avec une corrélation entre le degré de méthylation et la sévérité clinique (21). Enfin, une différence de réponse au traitement par GH selon le génotype du SSR a été décrite (22). Dans une étude, les concentrations d'IGFBP-3 (Insulin Growth Factor Binding Protein 3) étaient significativement plus élevées chez les enfants avec hypométhylation de ICR1 par comparaison à celles des enfants ayant une mUPD7. De plus, les enfants avec une hypométhylation de ICR1 avaient tendance à avoir un rattrapage statural moins important que les enfants avec mUPD7 (+1,9 DS vs +2,5 DS après 3 ans de traitement, $p=0,08$) (22).

Le SSR est un modèle de RCIU extrême avec altération majeure de la croissance fœtale. Or il est décrit depuis plusieurs années que le RCIU peut avoir des conséquences à long terme et notamment augmenter le risque de développer des pathologies métaboliques comme le diabète de type 2, l'hypertension artérielle et l'obésité. Ainsi, une corrélation inverse entre PN ou poids du placenta et pression artérielle a été décrite (23). D'autres études ont aussi montré l'existence d'une corrélation positive entre le PN et les paramètres anthropométriques à l'âge adulte (taille, poids, IMC) (24). De ce constat est née l'hypothèse du phénotype d'épargne ou « thrifty phenotype » (25) selon laquelle un environnement délétère in utero aboutissant à un

RCIU va conduire à une programmation métabolique et endocrinienne du fœtus lui permettant de se développer et de survivre dans des conditions particulières. Ce phénomène va cependant avoir des effets délétères à long terme lorsque l'organisme sera confronté à un environnement plus favorable et conduire au développement de maladies métaboliques comme la surcharge pondérale (26).

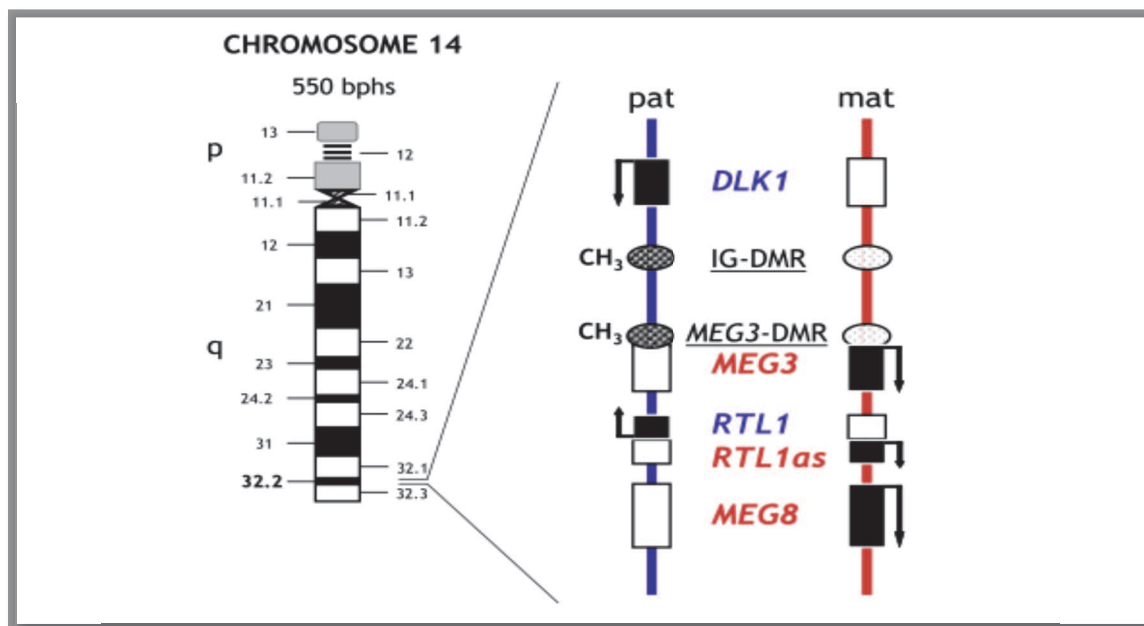
1.4 : Le gène *DLK1* :

Le gène *DLK1* (delta-like 1 homolog (drosophila)) ou également appelé *DLK*; *FAI*; *ZOG*; *pG2*; *PREF 1*; *delta1*; *Pref-1*) code pour une protéine transmembranaire impliquée dans la différenciation de plusieurs types cellulaires dont les adipocytes (27). Il serait aussi vraisemblablement un gène suppresseur de tumeur (28),(29),(30).

Le gène *DLK1* (figure 4) est situé sur le chromosome 14q32 et fait partie des gènes soumis à empreinte avec expression d'origine paternelle. En effet, la région chromosomique 14q32.2 contient un groupe de gènes soumis à empreinte paternelle comme *DLK1* et *RTL1* (Retrotransposon Like 1) ou à empreinte maternelle comme *MEG3* (Maternally Expressed Gene 3), *MEG8* (Maternally Expressed Gene 8) ou *RTL1as* (Retrotransposon Like antisense).

Figure 4: Vue schématique de la région 14q32 soumise à empreinte.

Hoffmann K, Heller R, Phil D. « Uniparental disomies 7 and 14 ». *Best practice and research clinical endocrinology and metabolism* 2011;77-100)



(En bleu les gènes à expression paternelle, et en rouge les gènes à expression maternelle : DLK1 : Delta like1 ; RTL1 : retrotransposon-like gene ; RTL1as : Retrotransposon like lantisense ; MEG3 : maternally expressed gene 3 ; MEG8 : maternally expressed gene 8 ; MEG3-DMR : maternally expressed gene- differentially methylated region ; IG-DMR : intergenic differentially methylated region)

La disomie uniparentale paternelle du chromosome 14 (pUPD 14), (15) ou syndrome de Kagami est une malformation fœtale rare avec hydramnios, naissance prématurée, poids de naissance et du placenta élevés pour l'âge gestationnel, thorax en forme de cloche avec hypoplasie pulmonaire et défauts de la paroi abdominale (omphalocèle, diastasis). D'autres signes sont décrits comme une dysmorphie faciale (front proéminent avec implantation basse des cheveux, cou court, micrognathie), des anomalies des membres (mésomélie, scoliose, arthrogrypose distale), et plus rarement des malformations cardiaques congénitales. L'évolution clinique de cette pathologie est sévère, marquée par une insuffisance respiratoire souvent mortelle, des difficultés alimentaires, des troubles de croissance et un déficit intellectuel. Le pronostic est limité dans la plupart des cas. Cependant, les enfants survivants peuvent avoir une amélioration thoracique et se stabiliser. Le phénotype pUPD 14 est lié à

une UPD segmentaire, une épimutation maternelle ou une microdélétion dans la région 14q32.2 contenant les gènes soumis à empreinte parentale *DLKI* et *RTL1* (tous les deux à expression paternelle) et *MEG3*, *RTL1as* et *MEG8* (à expression maternelle). Le phénotype ne semble pas différent selon les causes de pUPD 14 (15).

La disomie uniparentale maternelle du chromosome 14 (mUPD 14) ou syndrome de Temple est rare mais probablement sous-estimée en raison de la variabilité du phénotype (15). Sur le plan clinique, un RCIU est noté dans 90% des cas avec une hypotonie néonatale, une hyperlaxité, une acromicrie, un retard psychomoteur et des troubles de l'alimentation (Figure 5). Au cours de l'enfance, une obésité abdominale est décrite dans 60% des cas sans impulsivité alimentaire contrairement au syndrome de Prader-Willi. De plus, une puberté précoce avec un âge osseux avancé responsable d'une petite taille définitive est observée dans 90% des cas. Enfin, il existe des difficultés d'apprentissage et une petite déficience intellectuelle par comparaison à la population générale. Sur le plan moléculaire, plusieurs mécanismes sont décrits comme une UPD segmentaire (14) mat, une microdélétion paternelle de la région soumise à empreinte 14q32 ou une épimutation paternelle (hypométhylation).

Figure 5 : Photo d'un enfant présentant une disomie uniparentale maternelle du chromosome 14 (mUPD 14).

(Roel Hordijk. *Maternal uniparental disomy for chromosome 14 in a boy with a normal karyotype. Journal of medical genetics 1996;36 :782-785.*)



Le phénotype de mUPD 14 est proche de celui du syndrome de Prader-Willi caractérisé par une hypotonie néonatale, une acromicrie, un retard mental et une hyperphagie responsable d'une obésité dans l'enfance. Récemment, chez 111 patients présentant un phénotype Prader-Willi-like sans anomalie retrouvée du chromosome 15, neuf patients étaient porteurs d'une mUPD 14 (31),(32). Ces résultats suggèrent que la suppression de la région chromosomique 14q32 soumise à empreinte paternelle est responsable d'un tableau clinique proche du syndrome de Prader-Willi. Cependant, il existe une puberté précoce dans le syndrome de Temple alors qu'elle est retardée ou incomplète dans le syndrome de Prader-Willi. De plus, dans les premières années de vie, ces patients peuvent aussi faire évoquer le diagnostic de SSR en raison du RCIU avec possible relative macrocéphalie, du grand front, de l'absence de sensation de faim et des difficultés alimentaires majeures.

La région 14q32 contenant le gène *DLKI* est une région candidate pour l'obésité chez des enfants ayant des antécédents de RCIU. Un polymorphisme sur ce gène a d'ailleurs été récemment associé à l'obésité infantile (33).

De plus, quelques cas d'épimutations du chromosome 14 sont décrits dans la littérature avec des phénotypes variables et sont associés à un tableau d'obésité (Tableau 1) : (31), (34), (35), (36).

Tableau 1 : Epimutations du chromosome 14 décrites dans la littérature.

	Hosoki et al (34) N=1	Temple (35) N=1	Buiting et al (36) N=2		Mitter et al (31) N=1
Age (ans)	2-12	7-12	44	11	15
Sexe	F	M	F	M	M
RCIU	-	+	+	+	+
Clinique					
- Front bombé	+	+	-	-	-
- Palais ogival	-	+	-	-	-
- Micrognathie	+	-	-	-	-
- Petites mains	+	+	+	+	+
- Scoliose	-	+	-	+	-
Hypotonie néonatale	+	+	+	+	+
Obésité	-	-	+	+	+
Puberté précoce	ND	+	+	+	+
Déficit intellectuel	-	-	+	+	+
Difficultés alimentaires en période néonatale	ND	+	+	+	+
Petite taille	ND	ND	+	ND	+

En raison du rôle potentiel des régions soumises à empreinte impliquées dans le SSR et la mUPD (14) dans l'obésité infantile, nous avons émis l'hypothèse que des anomalies de méthylation dans ces régions pourraient être responsables d'obésité dans l'enfance et à l'âge adulte. L'objectif de ce travail était donc d'évaluer l'implication de trois régions chromosomiques soumises à empreinte parentale (*DLK1* ; *H19-IGF2* ; *SNRPN*) dans l'obésité infantile.

Pour cela, nous avons :

1) décrit deux observations cliniques d'obésité développée dans l'adolescence et pour lesquelles une épimutation de *DLK1* (observation n°1) et une hypométhylation de *H19-IGF2* (observation n°2) ont été diagnostiquées.

2) recherché des anomalies de méthylation dans les 3 régions chromosomiques soumises à empreinte parentale (*DLK1* ; *H19-IGF2* ; *SNRPN*) chez des enfants obèses ayant des antécédents de RCIU.

2/ MATERIELS ET METHODES :

2.1 : Population étudiée :

Nous avons sélectionné notre cohorte à partir d'une banque de données déjà existante d'enfants obèses recrutés dans le service de Nutrition et Gastroentérologie Pédiatrique de l'hôpital Trousseau à Paris. Les critères d'inclusion étaient une obésité définie par un Z-score de l'IMC $> 2DS$ selon les courbes de Rolland-Cachera (22) et des antécédents de RCIU (poids de naissance et/ou taille de naissance $< -2 DS$) selon les courbes d'Usher et Mc Lean (37).

Les données anthropométriques à la naissance étaient disponibles pour 96 enfants obèses. Vingt et un enfants avaient des antécédents de RCIU. Nous avons pu obtenir l'ADN pour 15 d'entre eux à partir desquels nous avons pu effectuer l'étude de méthylation pour les gènes *DLK1*, *H19/IGF2* et *SNRPN*.

Pour chaque enfant, nous avons noté de manière rétrospective à partir de la banque de données et des dossiers, les données phénotypiques suivantes :

- Paramètres de naissance : terme de naissance, poids (PN), taille (TN) et périmètre crânien (PCN).
- Antécédents familiaux d'obésité ou de surpoids.
- Histoire pondérale avec l'âge de début de l'obésité.
- Données anthropométriques : Poids, Taille avec calcul de l'IMC (poids (kg) sur taille en m^2) et du Z-score de l'IMC ($[(IMC/médiane)^L-1]/S$) selon les courbes de référence en fonction de l'âge et du sexe de l'enfant (38) ; Tour de taille pour la répartition de la masse grasse.
- Composition corporelle par absorptiométrie biphotonique avec mesure du pourcentage de masse grasse.

- Paramètres métaboliques : insulinémie et glycémie à jeun avec calcul du HOMA (Homeostasis Model Assessment) selon la formule suivante : $[(\text{Insulinémie } (\mu\text{UI/mL}) \times \text{glycémie (mmol/l)})/22,5]$; cholestérol total (mmol/l), HDL et LDL cholestérol (mmol/L) et triglycérides à jeun (mmol/L).
- Mesure des pressions artérielles systolique (PAS) et diastolique (PAD).

Le consentement pour étude génétique dans le cadre de l'obésité a été recueilli pour tous les patients.

2.2: Allele Specific Methylation Multiplex Real-Time Quantitative PCR (ASMM RTQ-PCR) :

L'étude de méthylation des gènes soumis à empreinte *DLK1*, *H19/IGF2* et *SNRPN* a été réalisée dans le laboratoire de biologie moléculaire de l'hôpital Trousseau (Pr Netchine et Mme Virginie Steunou, UPMC) à l'aide de la technique de l'Allele Specific Methylation Multiplex Real-Time Quantitative PCR (ASMM RTQ-PCR) (Figure 6).

- **Etape 1 : Traitement de l'ADN avec du bisulfite de sodium.**

Cette étape permet de distinguer les 2 allèles parentaux en transformant les dinucléotides cytosine « CpG » non méthylés en thymidine « TpG » sur un seul brin alors que les dinucléotides CpG méthylés restent inchangés.

- **Etape 2 : Amplification par RTQ-PCR.**

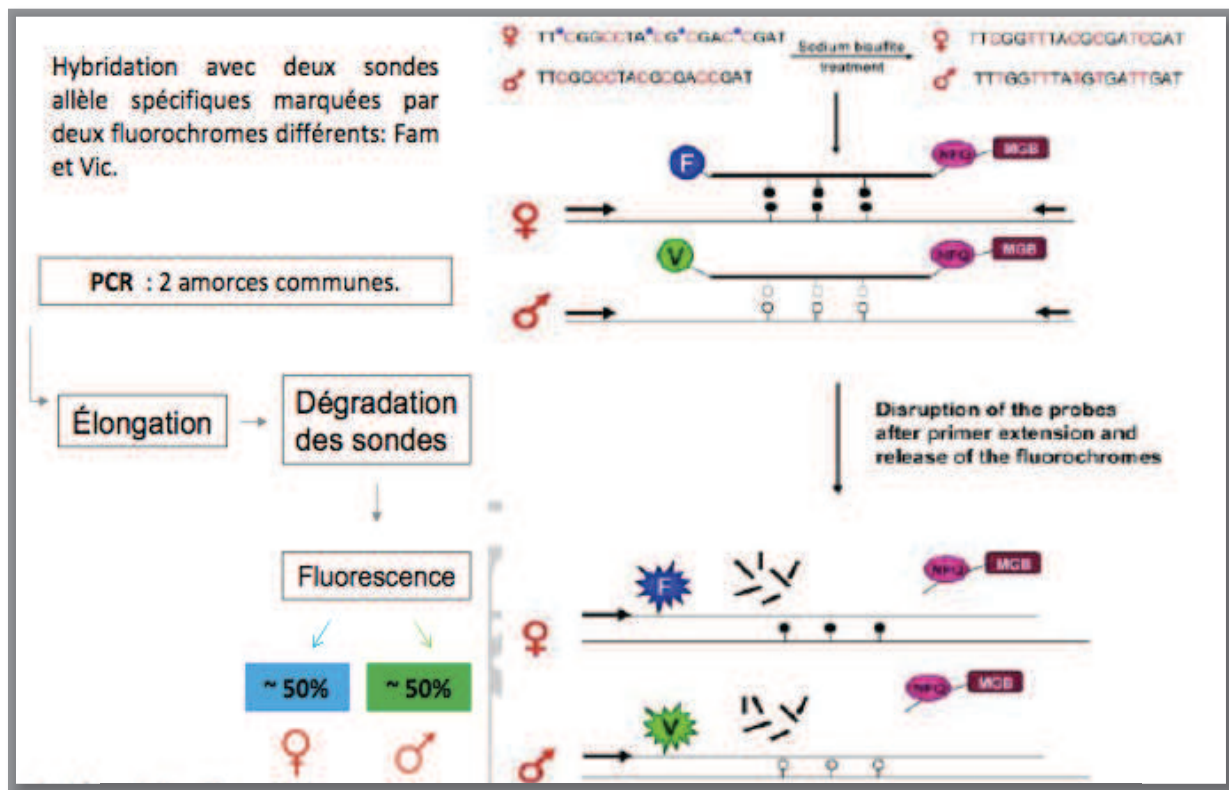
Elle se fait à l'aide d'amorces communes aux 2 allèles et de 2 sondes spécifiques FAM (F) et VIC (V) marquées différemment par un fluorochrome reconnaissant les 2 allèles, l'une spécifiquement l'allèle méthylé et l'autre, le non méthylé.

La sonde est un oligonucléotide spécifique d'un morceau interne à la séquence amplifiée. Elle est marquée en 5' par un fluorophore appelé « reporter » et en 3' par un autre type de fluorophore appelé « quencher ». Le spectre d'émission du « reporter » chevauche le spectre d'excitation du « quencher » si bien que l'émission du « reporter » est atténuée où « quenché » (éteint) par la proximité du « quencher ».

Lors de la réaction de PCR, si la sonde est dégradée par l'activité exonucléase de polarité 5' vers 3' de l'ADN-polymérase (taq-polymérase), les fluorophores ne sont plus reliés entre eux. Relâchés dans le milieu, les fluorophores « reporter » deviennent fluorescents par excitation au laser. Ce phénomène augmente à chaque cycle de PCR, résultant en une augmentation progressive de la fluorescence du « reporter ». Des courbes standards sont utilisées pour déterminer la quantité de chaque allèle dans l'échantillon. L'intensité de fluorescence de chaque fluorophore est corrélée avec la quantité de l'allèle correspondant dans l'échantillon d'ADN.

Dans des conditions normales, un taux équivalent pour les 2 allèles est attendu. Dans des conditions pathologiques telle que la perte de l'empreinte, il y a un déséquilibre entre l'intensité des deux fluorophores, reflétant soit une perte de méthylation (LOM) soit un gain de méthylation (GOM) (39).

Figure 6 : Schématisation de la technique Allele-Specific Methylated Multiplex real-time Quantitative PCR (ASMM RTQ-PCR).



- L'étage supérieur représente le traitement de l'ADN au sodium bisulfite. Les CpG méthylées (étoiles) restent inchangées alors que les Cytosines non méthylées sont converties en thymidine.

- L'étage inférieur représente l'amplification par Real time- PCR (RT-PCR). Les 2 sondes sont marquées par des fluorophores différents, FAM (F) et VIC (V) qui reconnaissent spécifiquement l'allèle méthylé et le non méthylé. Après amplification, les sondes sont dégradées et les 2 fluorophores sont relâchés dans le milieu, et ils deviennent fluorescents par excitation au laser.

- Cercles noirs : cytosines méthylées ; cercles blancs : cytosines non méthylées ; NFQ : Non Fluorescent Quencher ; MGB : Minor Groove Binder.

3/ RESULTATS

3.1 : A partir de 2 observations :

Dans un premier temps, nous avons décrit deux observations cliniques d'obésité développée dans l'adolescence et pour lesquelles une épimutation de *DLKI* (observation n°1) et une hypométhylation de *H19-IGF2* (observation n°2) ont été diagnostiquées dans le service du Pr Netchine (Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, Trousseau).

3.1.1 Observation n° 1

Il s'agissait d'une enfant de sexe féminin, née en 1997, vue en consultation à l'âge de 8 ans et ½ pour surpoids et prise en charge nutritionnelle. Elle avait des antécédents de RCIU avec une naissance à 40 SA et 4 jours, un PN de 2330g (-2,5DS), une TN de 45cm (-3,3DS) et un PCN de 33,5cm (-1,5 DS), soit une relative macrocéphalie. En période néonatale, elle ne réclamait pas à manger et avait des difficultés alimentaires améliorées dans la 2^{ème} partie de l'enfance.

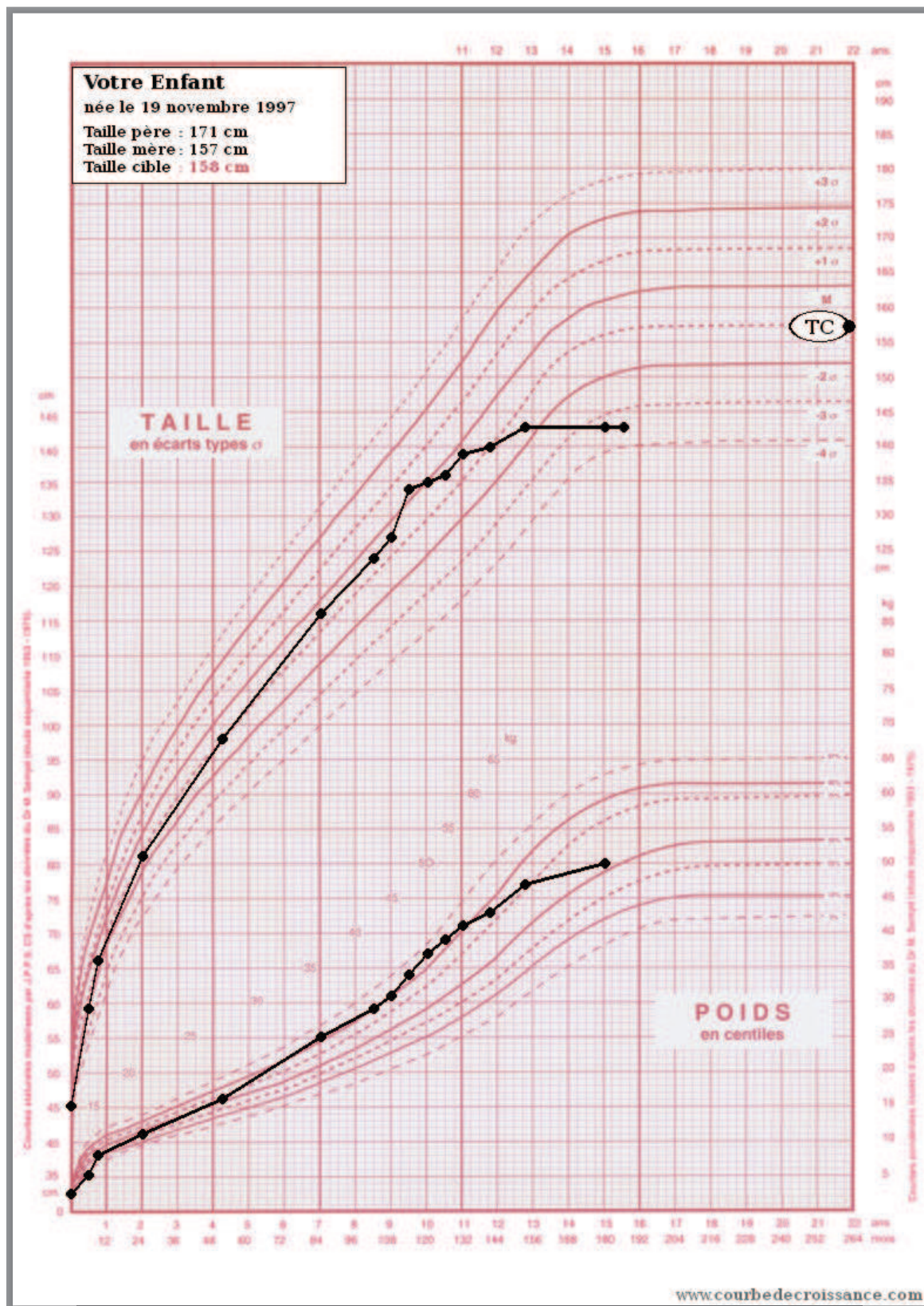
Lors de la 1^{ère} consultation, elle présentait un surpoids (Figure 7b) (poids : 29 kg ; taille : 124 cm ; IMC : 18,8 kg/m² ; rapport du poids sur le poids idéal pour la taille (PpT) : 126%), une puberté précoce (P2 S2 A1) avec télarche débutée vers 8 ans et pubarche débutée vers 9 ans, et une avance d'âge osseux. A l'âge de 11 ans, elle était S4 P5 A3 et présentait une hyperandrogénie clinique avec acné et hirsutisme. Le bilan hormonal était le suivant : FSH 4,6 UI/L, LH 3,5 UI/L, œstradiol 43 pg/ml, testostérone augmentée à 0,87 ng/ml (0,05-0,20 ng/ml). Le bilan surrénalien mettait en évidence une 17 OHP à 0,45 ng/ml (normale) (0,3-0,8 ng/ml), un delta4-andostènedione augmenté à 2,72 ng/ml (0,39-0,98 ng/ml) ainsi qu'un sulfate de déhydroépiandrostérone (DHEA sulfate) augmenté à 1159 ng/ml (180-1110 ng/ml). Le cortisol libre urinaire était normal. L'âge osseux était estimé à 12 ans pour un âge

chronologique de 10 ans ½. Un utérus pubère et des ovaires de tailles et d'aspects normaux étaient notés à l'échographie pelvienne. L'échographie rénale était normale. Une hyperandrogénie d'origine ovarienne a alors été évoquée. Un traitement par antiandrogène (Androcur©) et un traitement hormonal substitutif (Estreva©) ont alors été introduits avec une efficacité sur les signes d'hyperandrogénie.

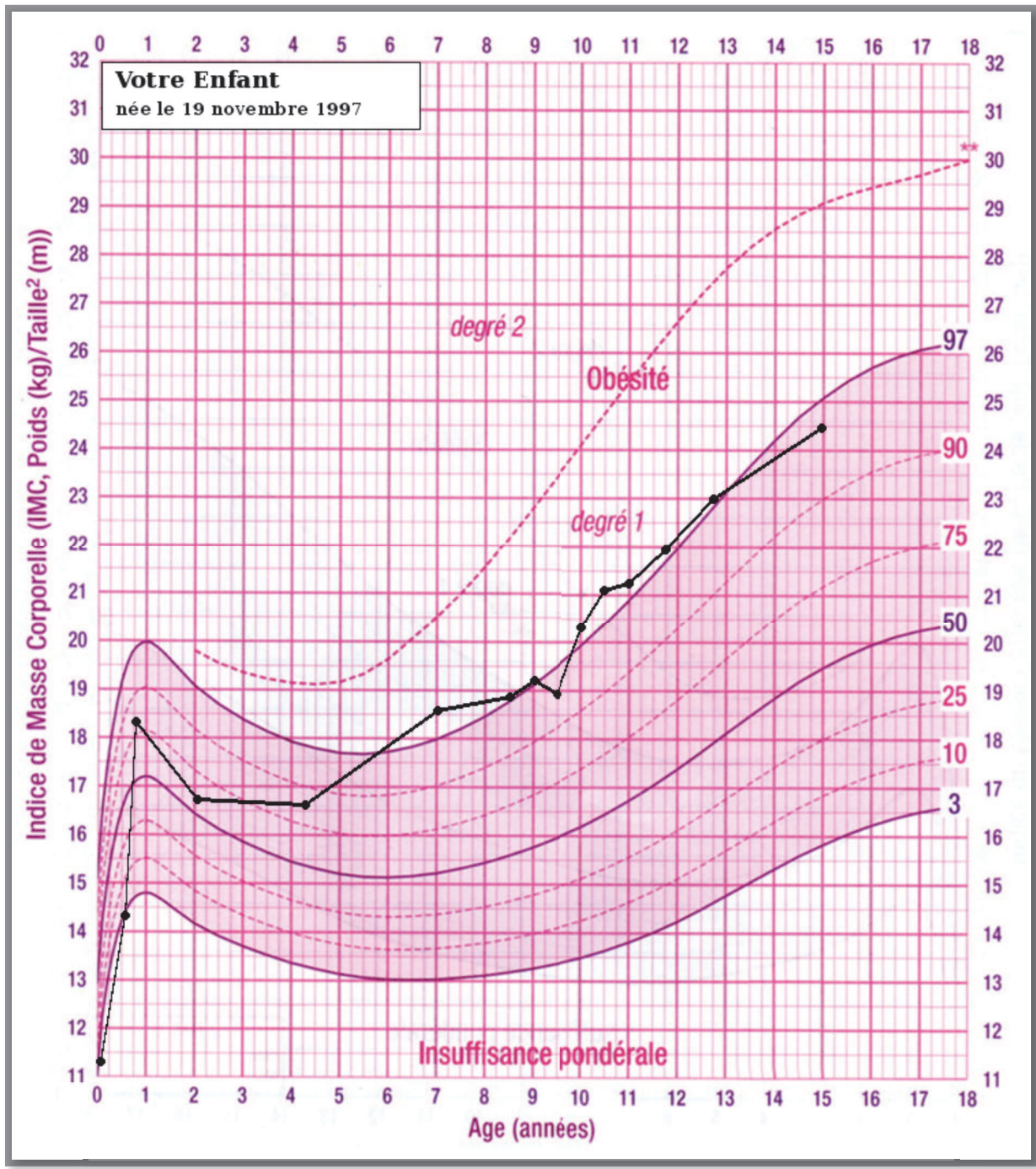
A 15 ans, sa puberté était terminée. Elle avait un IMC à 25 kg/m² avec une masse grasse mesurée à 45 % et un tour de taille de 90 cm (N : 81,1 cm). Elle présentait également une petite taille (Figure 7a) (142,7 cm (-2DS) pour une taille cible estimée à 157 cm), des petits pieds (pointure de chaussure : 33-34), des petites mains, une hyperandrogénie, et une asymétrie corporelle discrète.

Sur le plan clinique, le tableau était donc évocateur d'un syndrome de Silver Russell like devant le RCIU sévère, le retard statural, les particularités morphologiques avec des petites mains et des petits pieds, une clinodactylie du 5^{ème} doigt de la main droite, une légère asymétrie corporelle avec un hémicorps droit légèrement plus petit (pied, membre inférieur et main) et des difficultés alimentaires dans la période néonatale. Cependant, une disomie du chromosome 14 pouvait aussi être évoquée devant les très petites extrémités, une prise de poids excessive, la puberté précoce explosive et l'hyperandrogénie même si la patiente ne présentait pas de retard psychomoteur comme décrit en cas de disomie du chromosome 14 (Figure 7). L'étude de méthylation réalisée dans ce contexte a montré une méthylation normale de la région 11p15 mais a mis en évidence une épimutation du chromosome 14 au niveau de la région du gène *DLKI*. Une disomie maternelle du chromosome 14 a été éliminée par la réalisation d'une étude SNP (single nucleotide polymorphism) de marqueurs situés sur le chromosome 14 pour cette patiente et ses 2 parents confirmant que l'anomalie de méthylation mise en évidence était bien secondaire à une épimutation de la région *DLKI*.

Figure 7 : Courbe statur pondérale (7a) et d'indice de masse corporelle (IMC) (7b) de la patiente ayant une épimutation du chromosome 14 (observation n°1).



7a



7b

3.1.2 : Observation n°2 :

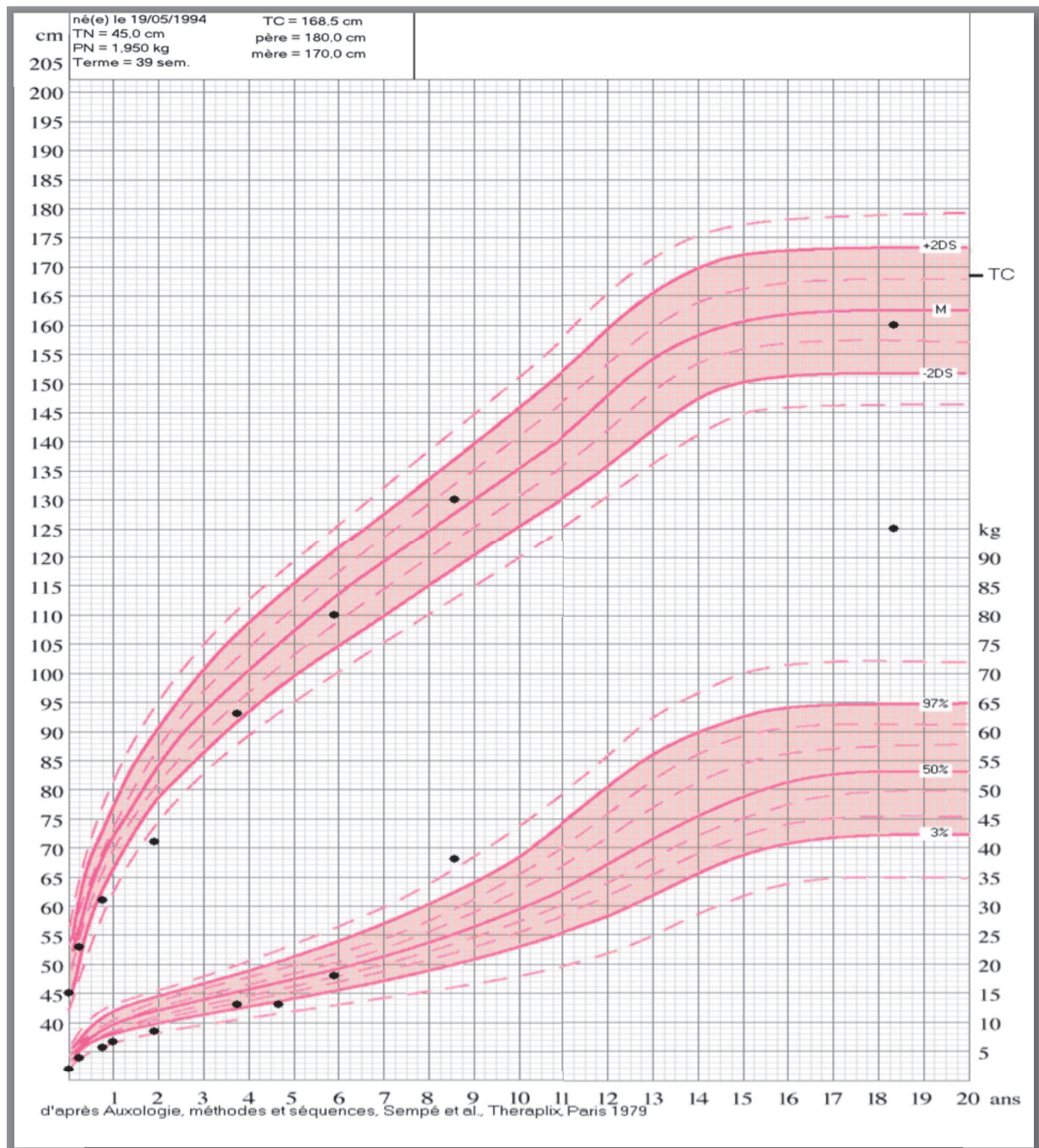
Il s'agissait d'une enfant née en 1994 vue en consultation à l'âge de 18 ans adressée par le service de Nutrition de l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière (Dr Christine Poitou). Elle était née au terme de 39 SA, avec un RCIU (PN 1940g (-3,3 DS), TN 45 cm (-3,1 DS), PCN de 32 cm (-2,55 DS)). Elle avait eu des difficultés alimentaires en période néonatale. Sur le plan clinique, il avait été noté à l'époque une clinodactylie des 5^{ème} doigts, des sclérotiques bleutées, un grand front bombé, une asymétrie corporelle avec une hypotrophie hémicorporelle gauche. Des épisodes d'hypoglycémies ont été décrits dans l'enfance. La croissance staturale (Figure 8a) était sur -3 DS jusqu'à l'âge de 2 ans, avec une accélération de la vitesse de croissance à partir de l'âge de 3 ans et une prise de poids excessive à partir de l'âge de 7 ans entraînant une obésité avec un IMC à 36 kg/m² à l'âge de 18 ans (Figure 8b). Cette obésité était marquée par des complications à type de gonalgies et dorsalgies entraînant des répercussions sur la vie quotidienne allant jusqu'à des difficultés à mener une scolarité normale. Sur le plan métabolique, elle présentait également un diabète de type 2. Concernant la puberté, l'âge des premières règles était à 11 ans, avec des cycles toujours irréguliers à 18 ans. Devant le tableau d'obésité avec comorbidités, une chirurgie bariatrique a été réalisée à l'âge de 18 ans.

Sur le plan étiologique, la leptine était à 82 ng/ml (taux élevé), l'adiponectine à 2,2 µg/ml (N : 8). La recherche de mutation sur les gènes du récepteur de la leptine, de *MC4R*, *PCSK1*, *POMC* était négative. Le caryotype était normal et la recherche d'épimutation du chromosome 14 négative.

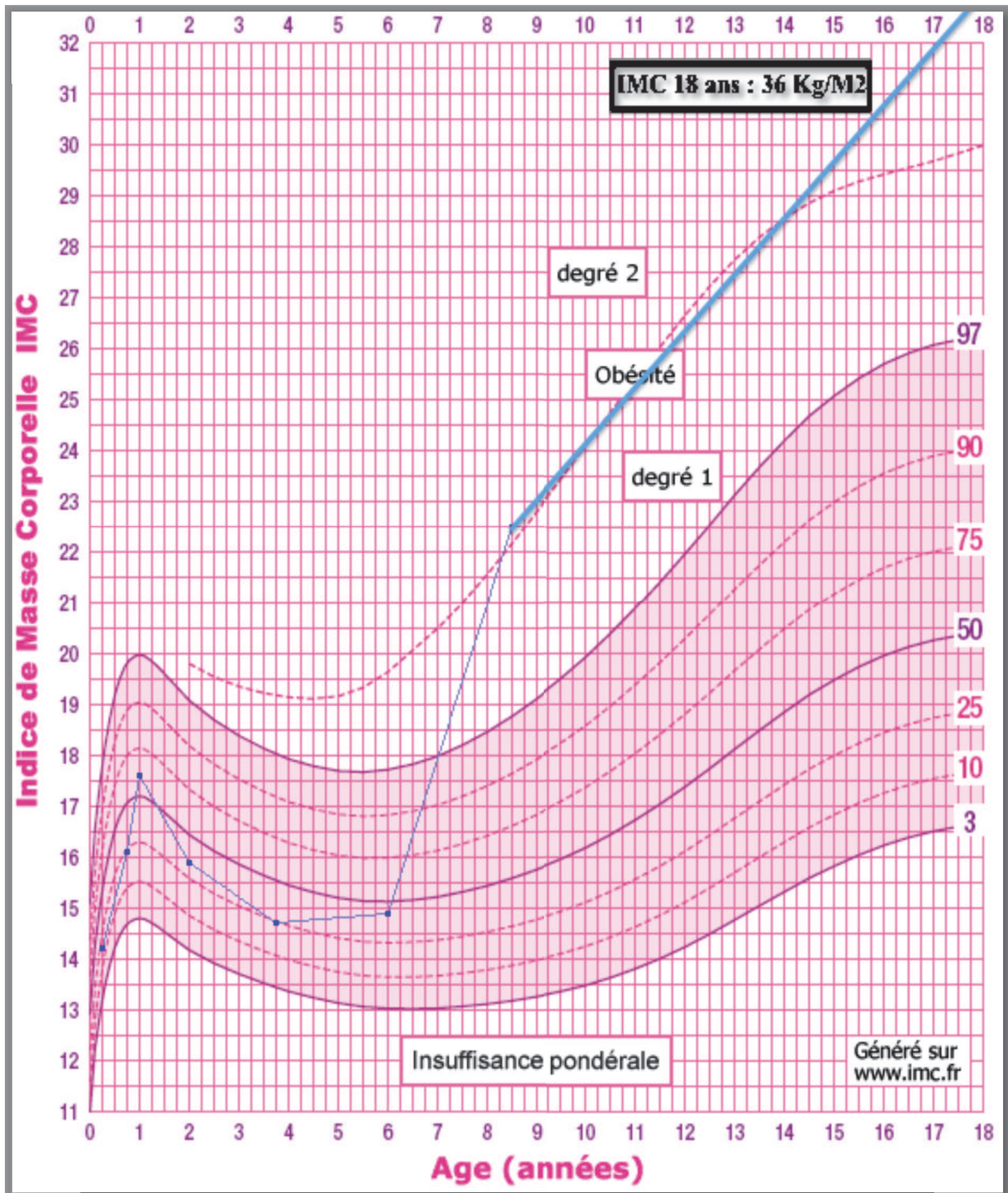
Devant le tableau (antécédents de RCIU, particularités morphologiques), la recherche de syndrome de Silver Russell a été réalisée retrouvant une absence de disomie du chromosome 7 mais une hypométhylation au niveau de la région 11p15 (*H19/IGF2*) qui confirmait le diagnostic.

Il est important de noter que cette patiente avait une taille finale normale sans traitement par hormone de croissance (taille 160 cm à 18 ans) contrastant avec les tailles finales historiques rapportées dans ce syndrome (139 ± 9 cm pour les femmes) (40). De plus, le diagnostic de SSR a pu être réalisé à l'âge de 18 ans grâce au diagnostic moléculaire disponible depuis 2005 (21). En l'absence de cette certitude diagnostique moléculaire, il aurait été difficile de porter le diagnostic indiscutable de SSR chez une jeune fille obèse de taille normale. Il s'agit à notre connaissance du premier cas de patient présentant un SSR et ayant eu recours à une chirurgie bariatrique en raison de l'obésité avec complications mécaniques et métaboliques.

Figure 8 : Courbes de croissance staturo-pondérale (8a) et d'IMC (8b) de la patiente ayant une hypométhylation au niveau de la région 11p15 (H19/IGF2) (observation n°2).



8a



8b

Ces deux observations montrent donc que des anomalies de méthylation dans des régions chromosomiques soumises à empreinte (*DLK1* ; *H19-IGF2*) peuvent être impliquées dans l'obésité commune. Afin de confirmer cette hypothèse, nous avons recherché systématiquement ces anomalies de méthylation dans une population d'enfants suivis pour obésité et ayant des antécédents de RCIU.

3.2 : Etude de la méthylation des gènes *DLK1*, *H19/IGF2* et *SNRPN*.

Nous avons recherché des anomalies de méthylation aux niveaux des gènes *DLK1*, *H19/IGF2* et *SNRPN* chez 15 sujets présentant une obésité infantile et des antécédents de PAG (petit âge gestationnel) / RCIU.

3.2.1 : Description de la population

La cohorte était composée de 15 enfants dont 7 garçons (46,6 %). Tous répondaient aux critères de RCIU selon les courbes de Usher et Mc Lean (<-2 SDS pour le PN et /ou la TN en fonction du terme). Ils étaient nés entre 1988 et 2004 au terme moyen de 39,2±1,0 SA avec un PN moyen de 2,7±0,2 kg et une TN moyenne de 45,9±0,9 cm. Les données sur le PCN n'étaient pas renseignées pour tous les enfants sauf 2.

Les patients étaient âgés en moyenne de 10,2±3,8 ans au moment de l'inclusion avec un Z score de l'IMC moyen de 5,0± 1,4 DS.

L'âge de début d'obésité était en moyenne de 2,7 ±1,0 ans. Le pourcentage moyen de masse grasse était de 46,5± 8,5% (données manquantes chez 3 patients). Un antécédent d'obésité ou de surpoids était noté chez au moins un des deux parents pour 11 sujets sur 15 (73,3%).

Les caractéristiques générales des 15 sujets étudiés sont décrites dans le tableau 2.

Tableau 2 : Description de la population étudiée:

CAS	Age à l'inclusion (ans)	Sexe	Terme (SA)	PN (Kg) (DS)	TN (cm) (DS)	PCN (cm) (DS)	Atcds familiaux obésité ou SP	Age début obésité (ans)	IMC (Kg/m2)	Z-score IMC (DS)	MG (%)
1	13	F	39	2,9 (-1)	46 (-2,5)	33,5 (-1,2)	Oui	3	53,7	6,2	61,1
2	10	M	40	2,6 (-2)	46,5 (-2,4)	35,5 (0,4)	Non	5	24,5	3,5	44,4
3	6	F	40	2,8 (-1,5)	46 (-2,7)	ND	ND	1	30,9	7,7	46,3
4	13	M	38	2,6 (1,4)	45,5 (-2,3)	ND	Non	4	28,8	3,6	39,2
5	8	F	40	2,5 (-2,2)	46 (-2,7)	ND	Non	2,5	23,1	4,0	35,3
6	12	F	38	2,2 (-2,4)	45 (-2,6)	ND	Oui	3	38,3	5,2	53,6
7	12	F	41	2,9 (-1,3)	47,5 (-2,2)	ND	Oui	2,5	35	4,7	48,5
8	12	F	37,5	2,7 (-0,4)	45 (-2)	ND	Oui	2	33,6	4,5	56,5
9	13	M	39,5	2,8 (-1,3)	47 (-2)	ND	Oui	2,5	34,8	4,6	54,6
10	4	M	40	2,2 (-2,8)	44 (-3,8)	ND	Oui	3	23,8	5,4	ND
11	15	M	40	2,8 (-1,6)	46 (-2,7)	ND	Oui	2,5	48,1	5,8	40,8
12	9	F	39	2,9 (-1)	46 (-2,5)	ND	Oui	3	28,4	5,1	42,8
13	16	M	39	2,9 (-1,1)	47 (-2)	ND	Oui	3,5	36,5	4,4	34,6
14	5	M	38	2,7 (-1,1)	46 (-2,1)	ND	Oui	1,2	28,8	7,6	ND
15	5	F	38,5	2,4 (-1,7)	45 (-2,6)	ND	Oui	1,5	28,4	2,6	ND

(DS : dérivation standard ; SA : semaine d'aménorrhée ; PN : poids de naissance ; TN : taille de naissance ; PCN : périmètre crânien de naissance ; IMC : indice de masse corporelle ; MG : masse grasse ; ND : non déterminé ; Atcds : antécédents)

Les paramètres métaboliques des 15 sujets sont décrits dans le tableau 3.

Le tour de taille était en moyenne de $104,7 \pm 25,9$ cm (pour les filles : $98,7 \pm 13,4$ cm et pour les garçons $101,8 \pm 25,6$ cm en moyenne).

Les PAS et PAD moyennes étaient respectivement de $117,1 \pm 10,9$ mmHg et $61,8 \pm 9,9$ mmHg.

En ce qui concerne le métabolisme glucidique, la glycémie à jeun était en moyenne de $4,48 \pm 0,39$ mmol/L et l'insulinémie de $15,7 \pm 11,8$ μ UI/mL. Le HOMA moyen était de $3,2 \pm 2,6$. Un seul enfant avait une intolérance au glucose sur les 15 sujets (6,7%). Aucun n'avait de diabète.

Sur le plan lipidique, la cholestérolémie totale, la LDL-cholestérolémie et la HDL-cholestérolémie moyennes étaient respectivement de $4,4 \pm 0,9$ mmol/L, $2,1 \pm 0,9$ mmol/L et $1,5 \pm 0,2$ mmol/L. La triglycéridémie était de $0,8 \pm 0,3$ mmol/L en moyenne.

Tableau 3 : Paramètres métaboliques des 15 sujets étudiés:

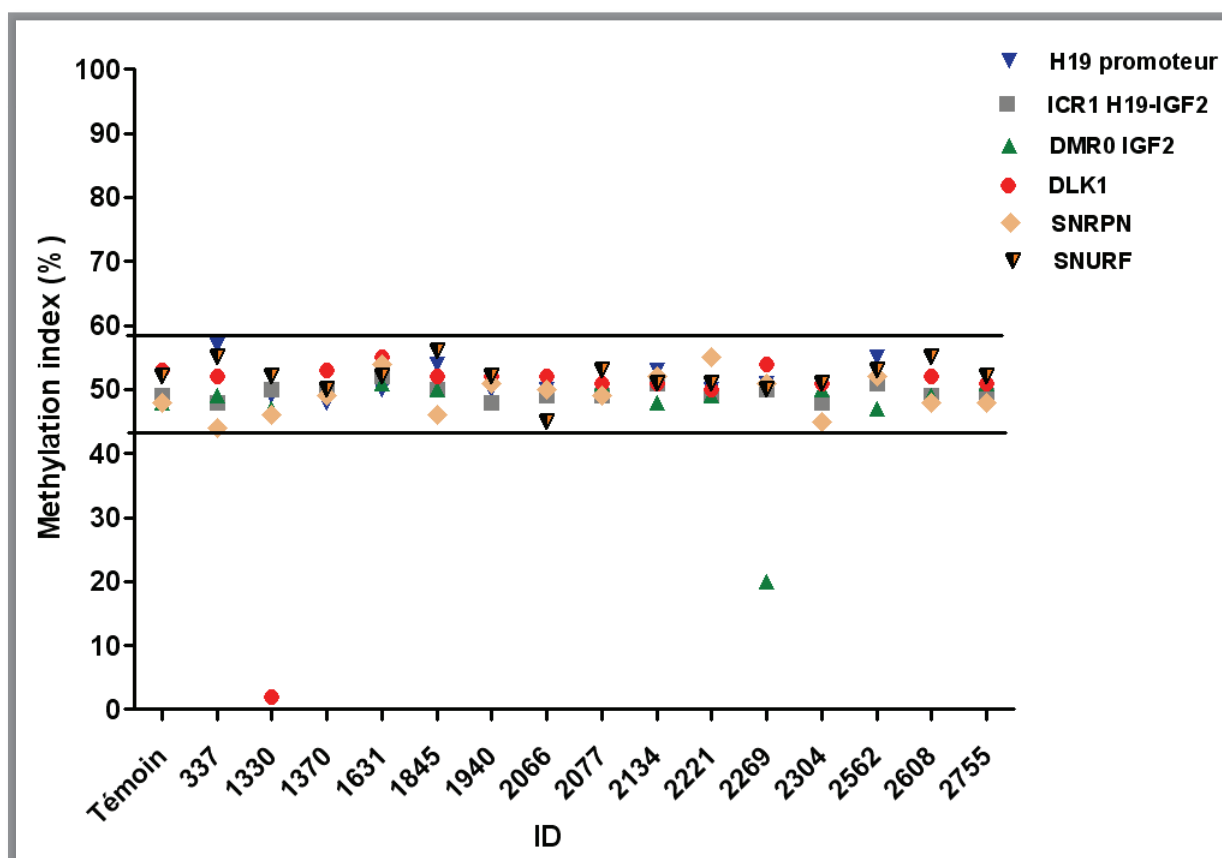
CAS	Diabète	TT cm	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)	Glycémie AJ mmol/L	Ins AJ μUI/mL	HOMA	CT mmol/L	HDL-C mmol/L	LDL-C mmol/L	TG mmol/L
1	Non	155	128	66	5,4	35	8,4	4,6	1	ND	1
2	IG	75	120	66	4,8	13,3	2,8	3,5	1,7	1,5	0,4
3	Non	88	111	58	4,4	ND	ND	5,8	ND	ND	ND
4	Non	ND	110	60	4,4	6,2	1,2	6,1	1,6	4,1	0,8
5	Non	81	110	60	4,4	5,1	1,1	4	1,6	1,9	0,5
6	Non	113	124	85	4,1	16,9	3,1	4,3	1,7	1,7	1
7	Non	111	110	50	4,4	33	6,4	5	1,4	2,9	1
8	Non	108,5	130	60	4	3,5	0,6	4,6	1,5	2,4	1,1
9	Non	114,5	110	60	4,2	23	4,3	5,3	1,2	2,9	1,6
10	ND	76,5	110	60	ND	ND	ND	2,9	1,5	0,9	0,7
11	Non	143,5	100	60	4,6	35,2	7,2	4,6	1,2	2,2	1
12	Non	ND	133	74	4,6	7,5	1,5	3,8	1,5	1,6	0,5
13	Non	110	ND	ND	4,8	9,9	2,1	3,7	1,6	0,9	0,7
14	Non	80	100	45	4,7	8	1,67	4,7	1,7	2,65	0,6
15	Non	ND	ND	ND	3,9	7,9	1,37	3	ND	ND	ND

(AJ : à jeun ; Ins : insulïnémie ; TT : tour de taille ; PAS : pression artérielle systolique ; PAD : pression artérielle diastolique ; CT : cholestérol total ; TG : triglycérides).

3.2.2 : Etude de la méthylation.

Une déméthylation sur le gène *DLK1* avec un index de méthylation de 2 % a été mis en évidence chez un patient de la cohorte (cas n°2) (Figure 9) soit 6,7 % des enfants obèses avec antécédents de RCIU issus de cette cohorte. Aucune autre anomalie n'a été identifiée dans les autres régions étudiées en dehors d'une hypométhylation au niveau de la région DMR0 d'IGF2 chez 1 sujet (cas n° 11) correspondant peut-être à un polymorphisme non pathologique mais dont la signification et l'absence de répercussion sur la croissance fœtale ne sont pas clairement établies (Figure 9).

Figure 9 : Index de méthylation des gènes soumis à empreinte sur les chromosomes 14 (*DLK1*) et 11 (*H19* promoteur, *ICR1 H19/IGF2*, *DMR0 IGF2*) et sur les gènes *SNRPN-SNURF* impliqués dans le syndrome de Prader Willi.



(Région entre les deux barres horizontales correspondant à un index de méthylation normal. En dessous : région correspondant à une hypométhylation).

3.3 : Description du patient porteur d'une anomalie de méthylation de *DLK1* (cas n°2) :

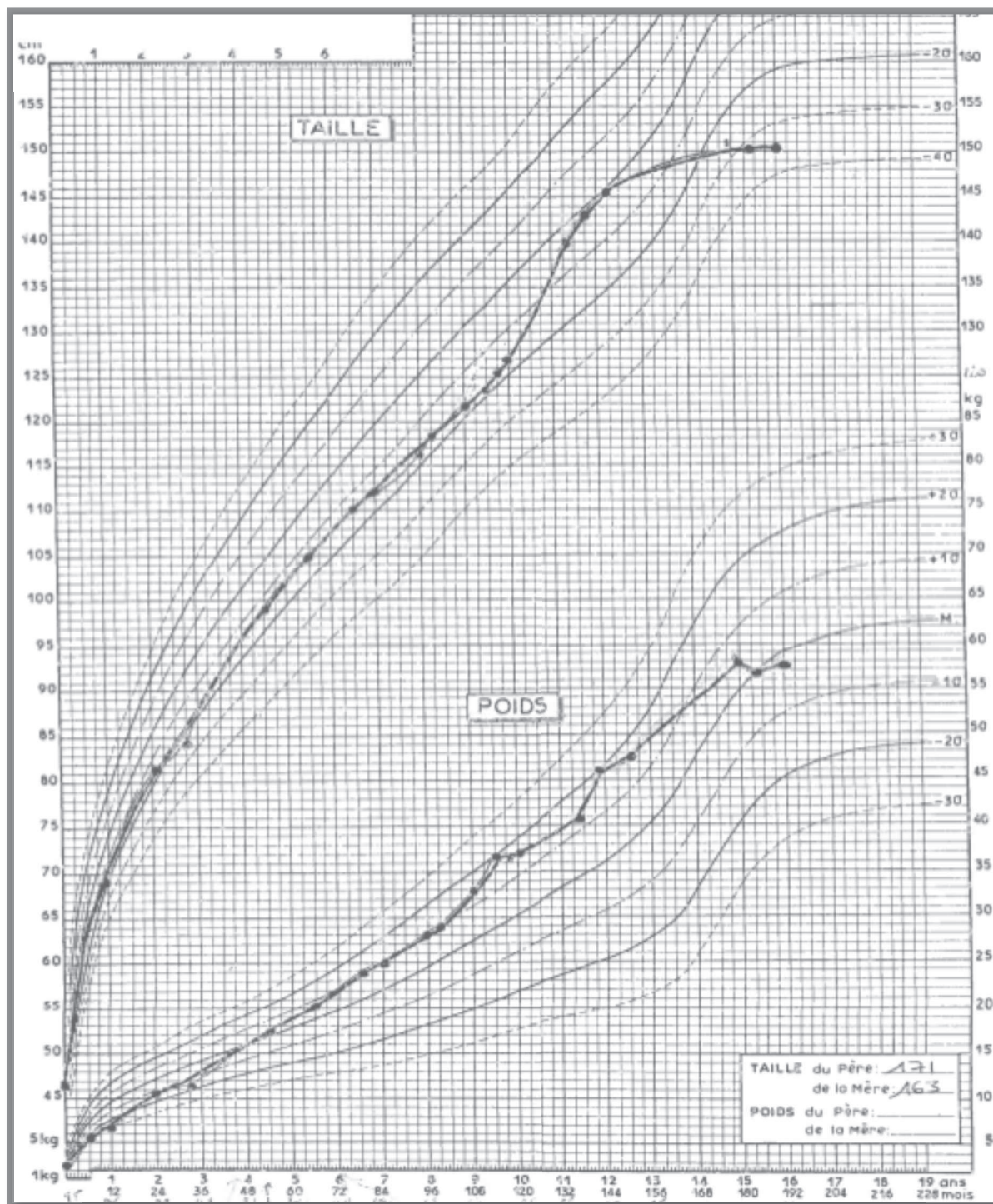
Il s'agissait d'un enfant de sexe masculin né en 1995, au terme de 40 SA, présentant un RCIU avec une macrocéphalie relative. Le PN était de 2,6 kg (-2 DS) avec une TN de 46,5 cm (-2,4DS) et un PCN de 35,5 cm (+0,4 DS). Il a présenté à la naissance, une hypotonie néonatale avec hospitalisation dans les premiers jours de vie pour troubles alimentaires. Sur le plan morphologique, il a été constaté vers 2 ans une acromicrie, un front bombé, une ensellure nasale, un micrognathisme, un palais ogival, une hyperlaxité. Un discret retard psychomoteur était noté avec des difficultés d'apprentissage et des troubles du langage ayant nécessité une prise en charge orthophonique.

Sur le plan statural, il a évolué initialement sur -2DS (Figure 10a) puis une accélération de la croissance staturale a été observée vers l'âge de 10 ans et 5 mois en rapport avec une puberté évolutive, finalement responsable d'une petite taille définitive à l'âge de 16 ans (150 cm soit -3,5 DS). Sur le plan pondéral, il a évolué initialement sur -2 DS jusqu'à l'âge de 2 ans, puis à partir de l'âge de 5 ans et ½, une accélération de la prise pondérale est notée correspondant à l'âge de début de l'obésité (IMC à 18 kg/m² soit > 97^{ème} P; Z score de l'IMC à 3,5 DS) (Figure 10b).

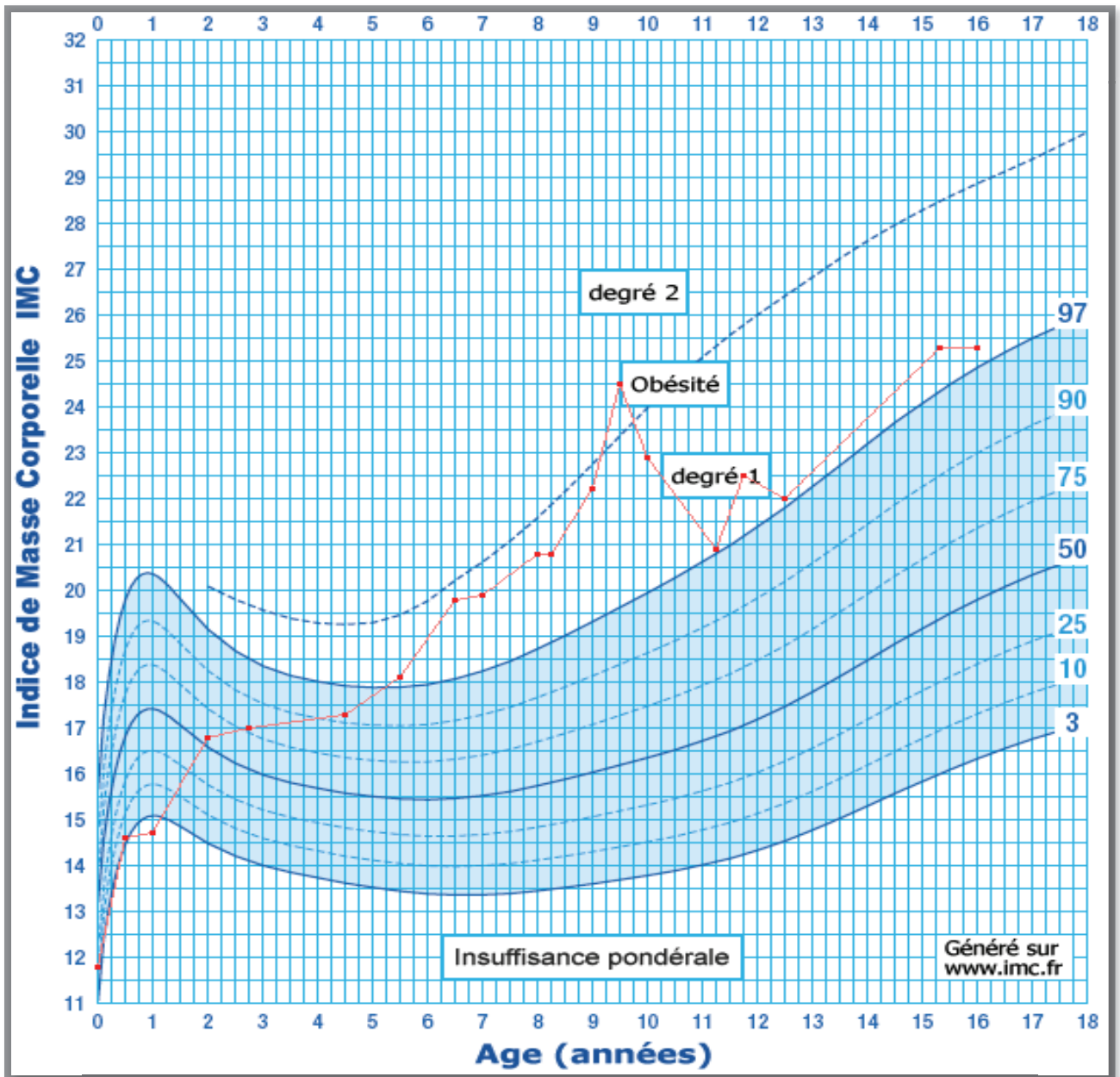
Sur le plan endocrinien, il a présenté une puberté précoce avant l'âge de 10 ans avec une avance d'âge osseux (âge osseux estimé à 11 ans pour un âge chronologique de 9 ans).

Sur le plan métabolique, un profil d'intolérance glucidique a été diagnostiqué à 11 ans avec une résistance insulinaire. Une hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) réalisée à 14 ans et 10 mois retrouvait une glycémie à jeun à 4,8 mmol/L (donc inférieure à 7 mmol/L) et une glycémie à T 120 minutes à 9,9 mmol/L (donc supérieure à 7,8 mmol/L et inférieure à 11 mmol/L) avec un HOMA à 2,8.

Figure 10: Courbes de croissance staturo-pondérale (10a) et d'indice de masse corporelle (IMC) (10b) du patient diagnostiqué avec épimutation du chromosome 14 (cas n°2).



10 a



10 b

3.4 : Comparaison des 3 observations. (Tableau 4)

Tableau 4 : Synthèse

Cas	Observation 1	Observation 2	Patient n°2
Sexe	F	F	M
Terme (SA)	40 + 4	39	40
PN (Kg)	2,33 (-2,5 DS)	1,94 (-3,3 DS)	2,56 (-2 DS)
TN (cm)	45 (-3,3 DS)	45 (-3,1 DS)	46,5 (-2,4 DS)
PC (cm)	33,5 (-1,5 DS)	32 (-2,55 DS)	35,5 (+0,4 DS)
RCIU	OUI	OUI	OUI
Histoire clinique et critères morphologiques	<ul style="list-style-type: none"> - Difficultés alimentaires en période néonatale. - Hyperandrogénie - Acromicrie - Asymétrie corporelle - Clinodactylie du 5^{ème} doigts main droite. - Absence de retard psychomoteur. 	<ul style="list-style-type: none"> - Macrocéphalie relative - Difficultés alimentaires en période néonatale. - Clinodactylie 5^{ème} doigts - Sclérotiques bleutées, grand front bombé - Asymétrie corporelle - Acromicrie - Hypoglycémies dans l'enfance 	<ul style="list-style-type: none"> - Hypotonie néonatale - Difficultés alimentaires en période néonatale. - Acromicrie - Front bombé. - Palais ogival. - Hyperlaxité. - Discret retard psychomoteur. - Difficultés apprentissage, troubles du langage.
Antécédent obésité ou surpoids famille	Non	ND	Non
Z score de l'IMC	1,9 DS à 10 ans	3,8 DS à 18 ans	3,5 DS à 10 ans
MG %	45,0	51,8	44,35
Diabète	Non	Diabète de type 2	IG
HTA	Non	Non	Non
Dyslipidémie	Non	Non	Non
Puberté précoce	Oui	Non	Oui
Age de début obésité (ans)	6	7	5
Génétique	Hypométhylation <i>DLK1</i> Chromosome 14	hypométhylation au niveau de la région 11p15 (<i>H19/IGF2</i>)	Hypométhylation <i>DLK1</i> Chromosome 14

(ND : non déterminé ; IG : intolérance glucidique ; MG : masse grasse).

4/ DISCUSSION :

L'objectif de notre étude était d'évaluer l'implication de trois régions chromosomiques soumises à empreinte (*DLK1* ; *H19-IGF2* ; *SNRPN*) dans l'obésité infantile.

Nous avons formulé l'hypothèse du rôle éventuel des gènes soumis à empreinte chez les enfants obèses petits pour l'âge gestationnel (PAG) et/ou avec des antécédents de RCIU à partir de l'observation des 2 cas index décrits dans ce travail. Le premier cas était une adolescente chez laquelle le diagnostic d'épimutation du chromosome 14 dans la région soumise à empreinte du gène *DLK1* a été fait en raison de ses antécédents de RCIU avec une prise de poids excessive dans l'enfance avec hyperandrogénie et puberté précoce. Le deuxième cas était une jeune adulte obèse chez laquelle le diagnostic de syndrome de Silver Russell par hypométhylation de la région 11p15 *H19/IGF2* a été fait de la même façon en raison des antécédents de PAG/RCIU, les particularités morphologiques et le développement de l'obésité dans la seconde partie de l'enfance. Ces 2 observations montrent donc que les anomalies épigénétiques classiquement décrites dans les cas de RCIU sont potentiellement impliquées dans l'obésité infantile. Afin de valider notre hypothèse, nous avons recherché systématiquement des anomalies de méthylation dans 3 régions chromosomiques soumises à empreinte (*DLK1*, *H19-IGF2*, *SNRPN*) chez 15 enfants suivis pour obésité sévère et chez lesquels des antécédents de RCIU ont été notés. Une hypométhylation de la région incluant le gène *DLK1* sur le chromosome 14 a été mise en évidence chez un patient, soit une fréquence de 6,7% dans notre cohorte. Cependant, en raison du faible effectif, il est difficile de conclure sur la réelle fréquence de telles anomalies dans l'obésité commune. Nous allons donc poursuivre ce travail en élargissant la population étudiée afin de confirmer l'implication de ces anomalies dans l'obésité commune.

L'analyse fine du phénotype des 3 sujets ayant une anomalie de méthylation permet de mettre en évidence des similitudes en dehors des antécédents de RCIU. Des difficultés alimentaires

dans les 1^{ères} années de vie sont notées dans les 3 observations ainsi que des particularités morphologiques comme la clinodactylie du 5^{ème} doigt, l'acromicrie et la macrocéphalie relative. Ces particularités sont classiquement décrites dans le SSR et la mUPD14 (9). La surcharge pondérale se développe dans la seconde partie de l'enfance avec un âge de début de l'obésité aux alentours de 6 ans dans les 3 cas. Il est important de noter que l'IMC reste en dessous du 3^{ème} percentile pour 2 enfants au cours des 1^{ères} années de la vie ce qui n'est pas classiquement rencontré dans les populations obèses sans anomalie de méthylation. De plus, aucun d'entre eux n'avait d'antécédent familial de surpoids ni d'obésité ce qui n'est pas habituel non plus dans l'obésité commune (41).

Sur le plan endocrinien, une puberté précoce responsable d'une accélération de la vitesse de croissance staturale avec une petite taille définitive est notée chez les 2 patients porteurs d'une épimutation du chromosome 14. Cela diffère de l'obésité commune et en particulier chez le garçon. En effet, l'âge de survenue de la puberté chez le garçon est peu ou pas influencé par l'obésité (41). En revanche, chez la fille obèse, la puberté est avancée (apparition des caractères sexuels secondaires avant 10 ans) dans environ 10 à 20 % des cas mais sans petite taille définitive. En effet, il existe une accélération de la croissance staturale chez l'enfant obèse avec une taille définitive normale en rapport avec la taille cible (41) en dépit des anomalies décrites dans l'axe GH/IGF1 (42) caractérisées principalement par une réduction de l'hormone de croissance (GH) avec des niveaux normaux d'IGF1. L'hyperinsulinisme décrit dans l'obésité est une des principales explications. En effet, celle-ci inhibe la synthèse d'IGFBP-1 (protéine porteuse de l'IGF-1) et augmente de ce fait la fraction libre de l'IGF-1 et donc sa biodisponibilité. L'insuline a également un effet stimulant direct sur la synthèse d'IGF-1. L'augmentation de l'IGF-1 permet de maintenir, et souvent d'accélérer la croissance staturale malgré les taux bas de GH (41).

Que ce soit dans la mUPD14 (15) ou le SSR, une adrénarchie et/ou une puberté précoce sont décrites et sont aussi probablement responsables de la petite taille définitive. L'analyse rétrospective de l'histoire clinique du cas index n°2 n'a pas permis de mettre en évidence cet élément. Cependant, en pratique courante, le suivi des enfants ayant un SSR montre l'apparition d'une hyperandrogénie fréquente dans la seconde partie de l'enfance avec des taux élevés de SDHEA et une évolution rapide de l'âge osseux ce qui aboutit à la petite taille définitive (43). Au total, l'analyse comparative des 3 observations nous a permis de distinguer quelques éléments communs dans l'histoire clinique : antécédents de RCIU avec macrocéphalie relative, difficultés alimentaires dans les 1^{ères} années de vie, accélération de la croissance pondérale après l'âge de 4 ans, adrénarchie et/ou puberté précoce qui doivent faire rechercher une anomalie de méthylation.

Sur le plan métabolique, 2 sujets sur 3 avaient des anomalies du métabolisme glucidique avec une intolérance glucidique et un diabète de type 2. Même si cela reste à confirmer dans une cohorte plus large, cela est possiblement en rapport avec le lien connu entre RCIU et complications métaboliques à long terme. En effet, l'intolérance au glucose reste rare dans l'obésité commune (10 à 15 % environ des enfants obèses (41)) et le diabète de type 2 exceptionnel. En effet, il touche principalement des adolescents ayant une obésité massive avec des antécédents familiaux de diabète et/ou issus de minorités à risque, ce qui n'était pas le cas du cas n°2. Il n'y avait pas d'autres complications métaboliques (dyslipidémie, hypertension artérielle). Enfin, il est important de noter que le % de masse grasse était particulièrement élevé pour le niveau d'IMC des 2 sujets ce qui pourrait être en faveur d'une accumulation préférentielle de la MG abdominale et d'un développement faible des masses musculaires comme décrit chez les patients ayant un SSR.

Les mécanismes moléculaires à l'origine du phénotype obésité sont peu connus en cas d'anomalies de méthylation. Le gène *Pref 1- DLK1*, situé sur le chromosome 14, est un gène

soumis à empreinte à expression paternelle. Il est connu pour jouer un rôle dans l'inhibition de la différenciation des adipocytes (44). Chez l'animal, les souris invalidées (KO) pour *DLKI* présentent une augmentation de masse grasse associée à d'autres phénotypes comme un retard de croissance et des malformations du squelette. Le même phénotype est observé chez les souris KO hétérozygotes si l'allèle invalidé est hérité du père, alors que ces anomalies ne sont pas retrouvées chez les souris KO hétérozygotes ayant hérité de l'allèle maternel (27). Ces résultats montrent que *DLKI* est bien soumis à empreinte paternelle et qu'il joue un rôle important dans la croissance et l'homéostasie du tissu adipeux.

Les gènes soumis à empreinte pourraient aussi jouer un rôle dans le contrôle hypothalamique de la balance énergétique (45), ce qui pourrait expliquer le phénotype obésité observé dans les syndromes liés à ces anomalies de méthylation (PWS, SSR, mUPD14). Récemment, la présence de *DLKI* a d'ailleurs été décrite dans une population de neurones située au niveau de l'hypothalamus (46) suggérant le rôle potentiel de *DLKI* dans le contrôle de la prise alimentaire (47),(46).

Nous avons mis en évidence dans notre cohorte une hypométhylation dans la région DMR0 de IGF2 chez un autre enfant obèse. La signification clinique de cette hypométhylation n'est pas connue. Sa recherche dans d'autres populations d'enfants suggère qu'il s'agit probablement d'un polymorphisme non pathologique mais cela n'est pas encore clairement établi (données personnelles Pr Netchine).

Les prises en charge classiques de l'obésité ou de la puberté précoce ne prenaient pas en compte jusqu'à présent les patients porteurs d'anomalies dans les gènes soumis à empreinte en raison de l'ignorance de l'implication de ces anomalies. Ce travail permet de montrer que des anomalies de méthylation peuvent être impliquées dans des tableaux d'obésité commune et que certains signes dans l'histoire clinique doivent les faire rechercher systématiquement tels que les antécédents de PAG/RCIU, les difficultés alimentaires dans la petite enfance et en

particulier en période néonatale, une adrénarchie et/ou une puberté précoce avec hyperandrogénie et enfin une surcharge pondérale de degré variable mais avec un % de masse grasse relativement élevé > 35-40%. Le dépistage et la prise en charge précoce des anomalies endocriniennes (hyperandrogénie, puberté précoce) et nutritionnelles dans ces situations pourraient éventuellement permettre d'améliorer le pronostic statural de ces enfants et limiter le développement de complications métaboliques comme les anomalies du métabolisme glucidique. Par ailleurs, ces observations soulignent l'importance du contrôle de la prise pondérale chez les enfants ayant un SSR. En effet, en raison des anomalies de la composition corporelle observées avec des masses musculaires peu développées, ces enfants doivent maintenir idéalement un PpT inférieur à 100% afin d'éviter l'apparition d'une obésité exposant à des risques de complications métaboliques précoces.

IV/ BIBLIOGRAPHIE :

1. Dubern B, Clément K. Aspects génétiques de l'obésité. *Presse Médicale*. 2007;36(11):1598–605.
2. Holliday R. Epigenetics: an overview. *Dev Genet*. 1994;15(6):453–7.
3. Filion GJ, Defossez P-A. Epigénétique et cancer. *Bull Cancer (Paris)*. 2006 1;93(4):343–7.
4. Silver HK, Kiyasu W, George J, Deamer Wc. Syndrome of congenital hemihypertrophy, shortness of stature, and elevated urinary gonadotropins. *Pediatrics*. 1953;12(4):368–76.
5. Russell A. A syndrome of intra-uterine dwarfism recognizable at birth with cranio-facial dysostosis, disproportionately short arms, and other anomalies (5 examples). *Proc R Soc Med*. 1954;47(12):1040–4.
6. Eggermann T, Eggermann K, Schönherr N. Growth retardation versus overgrowth: Silver-Russell syndrome is genetically opposite to Beckwith-Wiedemann syndrome. *Trends Genet TIG*. 2008;24(4):195–204.
7. Begemann M, Spengler S, Kordass U, Schröder C, Eggermann T. Segmental maternal uniparental disomy 7q associated with DLK1/GTL2 (14q32) hypomethylation. *Am J Med Genet A*. 2012;158A(2):423–8.
8. DeChiara TM, Efstratiadis A, Robertson EJ. A growth-deficiency phenotype in heterozygous mice carrying an insulin-like growth factor II gene disrupted by targeting. *Nature*. 1990 3;345(6270):78–80.
9. Netchine I, Rossignol S, Dufourg M-N, Azzi S, Rousseau A, Perin L, et al. 11p15 imprinting center region 1 loss of methylation is a common and specific cause of typical Russell-Silver syndrome: clinical scoring system and epigenetic-phenotypic correlations. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(8):3148–54.
10. Eggermann T. Russell-Silver syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2010 15;154C(3):355–64.
11. Monk D, Smith R, Arnaud P, Preece MA, Stanier P, Beechey CV, et al. Imprinted methylation profiles for proximal mouse chromosomes 11 and 7 as revealed by methylation-sensitive representational difference analysis. *Mamm Genome Off J Int Mamm Genome Soc*. 2003;14(12):805–16.
12. Monk D, Wakeling EL, Proud V, Hitchins M, Abu-Amero SN, Stanier P, et al. Duplication of 7p11.2-p13, including GRB10, in Silver-Russell syndrome. *Am J Hum Genet*. 2000;66(1):36–46.
13. Eggermann T. Genetics of Silver–Russell Syndrome. eLS [Internet]. John Wiley & Sons, Ltd; 2001 [cited 2013 Oct 2]. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470015902.a0023847/abstract>

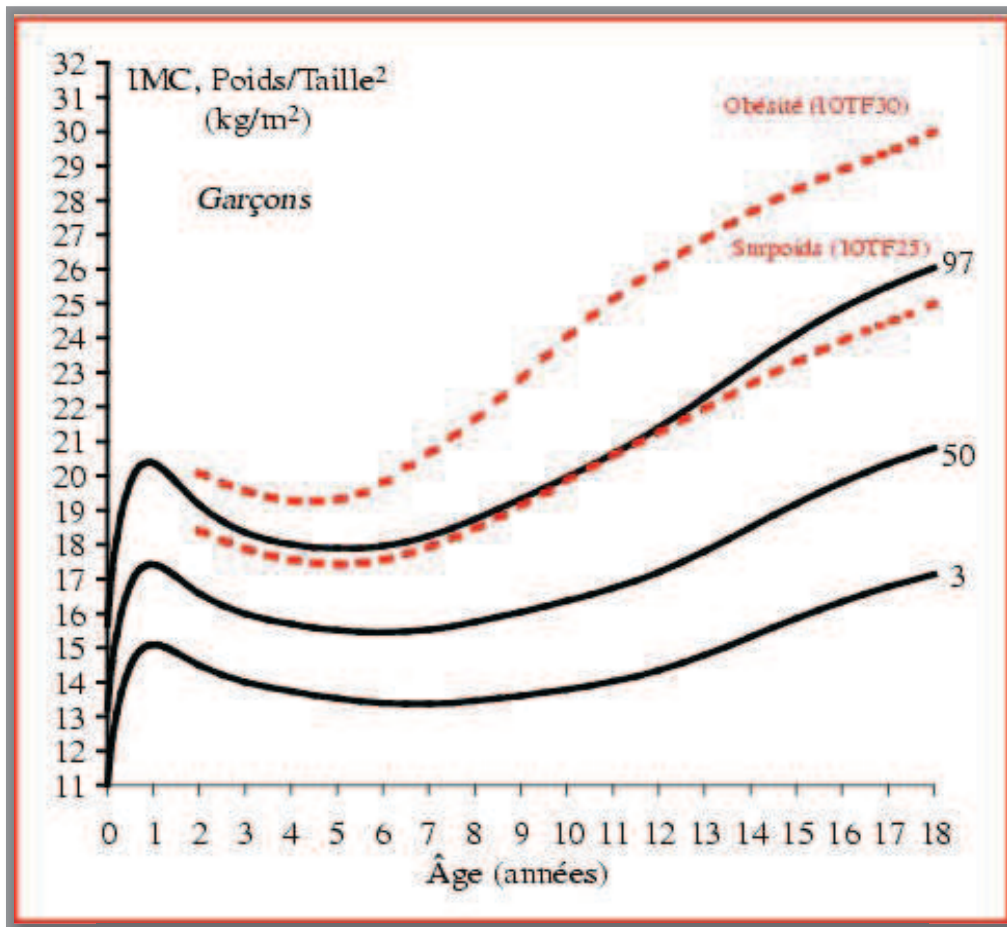
14. Rossignol S, Netchine I, Le Bouc Y, Gicquel C. Epigenetics in Silver-Russell syndrome. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2008;22(3):403–14.
15. Hoffmann K, Heller R. Uniparental disomies 7 and 14. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2011;25(1):77–100.
16. Price SM, Stanhope R, Garrett C, Preece MA, Trembath RC. The spectrum of Silver-Russell syndrome: a clinical and molecular genetic study and new diagnostic criteria. *J Med Genet.* 1999;36(11):837–42.
17. Bartholdi D, Krajewska-Walasek M, Ounap K, Gaspar H, Chrzanowska KH, Ilyana H, et al. Epigenetic mutations of the imprinted IGF2-H19 domain in Silver-Russell syndrome (SRS): results from a large cohort of patients with SRS and SRS-like phenotypes. *J Med Genet.* 2009;46(3):192–7.
18. Eggermann T, Gonzalez D, Spengler S, Arslan-Kirchner M, Binder G, Schönherr N. Broad clinical spectrum in Silver-Russell syndrome and consequences for genetic testing in growth retardation. *Pediatrics.* 2009;123(5):e929–931.
19. Wakeling EL, Amero SA, Alders M, Bliet J, Forsythe E, Kumar S, et al. Epigenotype-phenotype correlations in Silver-Russell syndrome. *J Med Genet.* 2010;47(11):760–8.
20. Netchine I, Rossignol S, Azzi S, Le Bouc Y. Epigenetic anomalies in childhood growth disorders. *Nestlé Nutr Inst Work Ser.* 2013;71:65–73.
21. Gicquel C, Rossignol S, Cabrol S, Houang M, Steunou V, Barbu V, et al. Epimutation of the telomeric imprinting center region on chromosome 11p15 in Silver-Russell syndrome. *Nat Genet.* 2005;37(9):1003–7.
22. Binder G, Seidel A-K, Martin DD, Schweizer R, Schwarze CP, Wollmann HA, et al. The endocrine phenotype in silver-russell syndrome is defined by the underlying epigenetic alteration. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(4):1402–7.
23. Barker DJ. The fetal and infant origins of adult disease. *BMJ.* 1990 17;301(6761):1111.
24. Parsons TJ, Power C, Manor O. Fetal and early life growth and body mass index from birth to early adulthood in 1958 British cohort: longitudinal study. *BMJ.* 2001 8;323(7325):1331–5.
25. Hales CN, Barker DJ. The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull.* 2001;60:5–20.
26. Hales CN, Barker DJ. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia.* 1992;35(7):595–601.
27. Moon YS, Smas CM, Lee K, Villena JA, Kim K-H, Yun EJ, et al. Mice lacking paternally expressed Pref-1/Dlk1 display growth retardation and accelerated adiposity. *Mol Cell Biol.* 2002;22(15):5585–92.
28. Laborda J. The role of the epidermal growth factor-like protein dlk in cell differentiation. *Histol Histopathol.* 2000;15(1):119–29.

29. Xu X, Liu R-F, Zhang X, Huang L-Y, Chen F, Fei Q-L, et al. DLK1 as a potential target against cancer stem/progenitor cells of hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer Ther.* 2012;11(3):629–38.
30. Anwar SL, Krech T, Hasemeier B, Schipper E, Schweitzer N, Vogel A, et al. Loss of imprinting and allelic switching at the DLK1-MEG3 locus in human hepatocellular carcinoma. *PLoS One.* 2012;7(11):e49462.
31. Mitter D, Buiting K, von Eggeling F, Kuechler A, Liehr T, Mau-Holzmann UA, et al. Is there a higher incidence of maternal uniparental disomy 14 [upd(14)mat]? Detection of 10 new patients by methylation-specific PCR. *Am J Med Genet A.* 2006 1;140(19):2039–49.
32. Hosoki K, Kagami M, Tanaka T, Kubota M, Kurosawa K, Kato M, et al. Maternal uniparental disomy 14 syndrome demonstrates prader-willi syndrome-like phenotype. *J Pediatr.* 2009;155(6):900–903.e1.
33. Wermter A-K, Scherag A, Meyre D, Reichwald K, Durand E, Nguyen TT, et al. Preferential reciprocal transfer of paternal/maternal DLK1 alleles to obese children: first evidence of polar overdominance in humans. *Eur J Hum Genet.* 2008 9;16(9):1126–34.
34. Hosoki K, Ogata T, Kagami M, Tanaka T, Saitoh S. Epimutation (hypomethylation) affecting the chromosome 14q32.2 imprinted region in a girl with upd(14)mat-like phenotype. *Eur J Hum Genet EJHG.* 2008;16(8):1019–23.
35. Temple IK, Shrubbs V, Lever M, Bullman H, Mackay DJG. Isolated imprinting mutation of the DLK1/GTL2 locus associated with a clinical presentation of maternal uniparental disomy of chromosome 14. *BMJ Case Reports.* 2009;2009.
36. Buiting K, Kanber D, Martín-Subero JI, Lieb W, Terhal P, Albrecht B, et al. Clinical features of maternal uniparental disomy 14 in patients with an epimutation and a deletion of the imprinted DLK1/GTL2 gene cluster. *Hum Mutat.* 2008;29(9):1141–6.
37. Usher R, McLean F. Intrauterine growth of live-born Caucasian infants at sea level: Standards obtained from measurements in 7 dimensions of infants born between 25 and 44 weeks. *J Pediatr.* 1969;74(6):901–10.
38. Rolland-Cachera MF, Cole TJ, Sempé M, Tichet J, Rossignol C, Charraud A. Body Mass Index variations: centiles from birth to 87 years. *Eur J Clin Nutr.* 1991;45(1):13–21.
39. Azzi S, Steunou V, Rousseau A, Rossignol S, Thibaud N, Danton F, et al. Allele-specific methylated multiplex real-time quantitative PCR (ASMM RTQ-PCR), a powerful method for diagnosing loss of imprinting of the 11p15 region in Russell Silver and Beckwith Wiedemann syndromes. *Hum Mutat.* 2011;32(2):249–58.
40. Wollmann HA, Kirchner T, Enders H, Preece MA, Ranke MB. Growth and symptoms in Silver-Russell syndrome: review on the basis of 386 patients. *Eur J Pediatr.* 1995;154(12):958–68.
41. Tounian P. L'obésité de l'enfant [Internet]. Paris: John Libbey Eurotext; 2006 [cited 2013 Oct 2]. Available from: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&scope=site&db=nlebk&db=nlabk&AN=604575>

42. De Leonibus C, Marcovecchio ML, Chiarelli F. Update on statural growth and pubertal development in obese children. *Pediatr Reports*. 2012 6;4(4):e35.
43. Davies PS, Valley R, Preece MA. Adolescent growth and pubertal progression in the Silver-Russell syndrome. *Arch Dis Child*. 1988;63(2):130–5.
44. O’Connell J, Lynch L, Hogan A, Cawood TJ, O’Shea D. Preadipocyte factor-1 is associated with metabolic profile in severe obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(4):E680–684.
45. Ivanova E, Kelsey G. Imprinted genes and hypothalamic function. *J Mol Endocrinol*. 2011;47(2):R67–74.
46. Meister B, Perez-Manso M, Daraio T. Delta-like 1 homologue is a hypothalamus-enriched protein that is present in orexin-containing neurones of the lateral hypothalamic area. *J Neuroendocrinol*. 2013;25(7):617–25.
47. Berthoud H-R, Münzberg H. The lateral hypothalamus as integrator of metabolic and environmental needs: from electrical self-stimulation to opto-genetics. *Physiol Behav*. 2011 25;104(1):29–39.

V/ ANNEXE :

Annexe 1 : Courbes de corpulence françaises et seuils de l'IOTF pour les garçons



Les centiles IOTF 25 (centile atteignant 25 kg/m² à 18 ans) et IOTF 30 (centile atteignant 30 kg/m² à 18 ans) définissent respectivement le surpoids et l'obésité. Le 97^e centile des valeurs de référence françaises définit le surpoids.

VI/ RESUME ET MOTS CLES :

Introduction : Les facteurs génétiques et épigénétiques jouent un rôle-clé dans la genèse de l'obésité infantile. Le syndrome de Silver-Russell, modèle extrême de retard de croissance intra-utérin (RCIU), est lié à des anomalies de méthylation sur des gènes soumis à empreinte et notamment la région *H19-IGF2*. En raison du lien décrit entre RCIU et obésité, nous avons fait l'hypothèse que des anomalies dans certaines régions soumises à empreinte pourraient être impliquées dans l'obésité infantile. L'objectif de notre étude était donc d'évaluer l'implication de trois régions chromosomiques soumises à empreinte dans l'obésité infantile.

Matériels et méthodes : Dans un 1^{er} temps, nous avons repris 2 observations d'adolescentes obèses nées petites pour l'âge gestationnel (PAG) et chez lesquelles une anomalie de méthylation du gène *DLK1* ou de la région *H19-IGF2* a été diagnostiquée. Puis, nous avons effectué un profil de méthylation de 3 gènes soumis à empreinte parentale (*DLK1* ; *H19-IGF2* et *SNRPN*) à partir de la technique ASMM RTQ-PCR chez 15 enfants obèses ayant des antécédents de RCIU.

Résultats : Dans le groupe des 15 enfants obèses étudiés, une hypométhylation du gène *DLK1* a été diagnostiquée chez un enfant. Une hypométhylation au niveau de la région DMR0 de *IGF2* a aussi été mise en évidence chez un autre sujet, la signification physiopathologique de cette hypométhylation n'étant pour l'instant pas élucidée. La fréquence de ces anomalies dans notre cohorte était donc de 6,7%. L'analyse du phénotype a permis de mettre en évidence des similitudes comme l'absence d'antécédents familiaux d'obésité, des difficultés alimentaires dans la petite enfance, l'accélération de la croissance pondérale après l'âge de 5 ans et des anomalies endocriniennes comme une hyperandrogénie et/ou une puberté précoce avec une petite taille définitive chez les patients porteurs de telles anomalies.

Discussion : Cette étude préliminaire a confirmé que des anomalies de méthylation dans des régions chromosomiques soumises à empreinte sont impliquées dans l'obésité infantile. Elles sont associées à un phénotype spécifique évocateur. Ces résultats préliminaires sont à confirmer dans une cohorte plus large d'enfants obèses ayant des antécédents de PAG/RCIU afin de déterminer la fréquence de telles anomalies dans l'obésité infantile.

MOTS-CLES :

Syndrome de Silver Russell ; Retard de croissance intra-utérin ; gènes soumis à empreinte parentale ; obésité infantile.

RESUME ET MOTS CLES :

Introduction : Les facteurs génétiques et épigénétiques jouent un rôle-clé dans la genèse de l'obésité infantile. Le syndrome de Silver-Russell, modèle extrême de retard de croissance intra-utérin (RCIU), est lié à des anomalies de méthylation sur des gènes soumis à empreinte et notamment la région *H19-IGF2*. En raison du lien décrit entre RCIU et obésité, nous avons fait l'hypothèse que des anomalies dans certaines régions soumises à empreinte pourraient être impliquées dans l'obésité infantile. L'objectif de notre étude était donc d'évaluer l'implication de trois régions chromosomiques soumises à empreinte dans l'obésité infantile.

Matériels et méthodes : Dans un 1^{er} temps, nous avons repris 2 observations d'adolescentes obèses nées petites pour l'âge gestationnel (PAG) et chez lesquelles une anomalie de méthylation du gène *DLK1* ou de la région *H19-IGF2* a été diagnostiquée. Puis, nous avons effectué un profil de méthylation de 3 gènes soumis à empreinte parentale (*DLK1* ; *H19-IGF2* et *SNRPN*) à partir de la technique ASMM RTQ-PCR chez 15 enfants obèses ayant des antécédents de RCIU.

Résultats : Dans le groupe des 15 enfants obèses étudiés, une hypométhylation du gène *DLK1* a été diagnostiquée chez un enfant. Une hypométhylation au niveau de la région DMR0 de *IGF2*, a aussi été mise en évidence chez un autre sujet, la signification physiopathologique de cette hypométhylation n'étant pour l'instant pas élucidée. La fréquence de ces anomalies dans notre cohorte était donc de 6,7%. L'analyse du phénotype a permis de mettre en évidence des similitudes comme l'absence d'antécédents familiaux d'obésité, des difficultés alimentaires dans la petite enfance, l'accélération de la croissance pondérale après l'âge de 5 ans et des anomalies endocriniennes comme une hyperandrogénie et/ou une puberté précoce avec une petite taille définitive chez les patients porteurs de telles anomalies.

Discussion : Cette étude préliminaire a confirmé que des anomalies de méthylation dans des régions chromosomiques soumises à empreinte sont impliquées dans l'obésité infantile. Elles sont associées à un phénotype spécifique évocateur. Ces résultats préliminaires sont à confirmer dans une cohorte plus large d'enfants obèses ayant des antécédents de PAG/RCIU afin de déterminer la fréquence de telles anomalies dans l'obésité infantile.

MOTS-CLES :

Syndrome de Silver Russell ; retard de croissance intra-utérin ; gènes soumis à empreinte parentale ; obésité infantile.