

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES

THÈSE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR

Sciences de la Vie et de la Santé

Ecole Doctorale : Gc2iD Paris Descartes - Paris Diderot

Discipline : Endocrinologie

présentée et soutenue publiquement

par Marie DEVERNAY-LEFORT

le 13 décembre 2010

**Sujet : Variations phénotypiques du syndrome de Turner
et origine parentale du chromosome X**

Jury :

Pr. Michel POLAK Président

Pr Maïté TAUBER Rapporteur

Dr Claire ROUGEULLE Rapporteur

Dr Irène NETCHINE Examineur

Pr Jean-Claude CAREL Directeur de thèse

REMERCIEMENTS :

A Monsieur le Professeur Michel Polak, pour me faire l'honneur de présider ce jury, recevez l'expression de mes sincères remerciements, et de mon plus profond respect.

A Madame le Docteur Claire Rougeulle, je suis très touchée de l'honneur que vous me faites en acceptant d'être rapporteur de ce travail. Veuillez recevoir mes sincères remerciements.

A Madame le Professeur Maïté Tauber, pour avoir accepté d'être rapporteur de ma thèse, pour votre dynamisme et investissement en endocrinologie pédiatrique, recevez l'expression de mes remerciements et de toute ma reconnaissance.

A Madame le Docteur Irène Netchine, je suis très sensible à l'honneur que vous me faites en acceptant de participer à ce jury de thèse, veuillez accepter mes plus sincères remerciements et l'expression de mon plus grand respect.

A Madame le Docteur Claire Levy-Marchal, je vous suis très reconnaissante de m'avoir accueillie dans votre unité INSERM 690 et tiens à vous exprimer ma gratitude pour votre enseignement.

A Monsieur le Professeur Jean-Claude Carel pour m'avoir incitée à réaliser cette thèse et guidée dans sa réalisation. Nous avons choisi un sujet mêlant clinique et génétique, correspondant à mes motivations. Merci de m'avoir, tout en encourageant l'autonomie dans le travail, ouvert l'esprit à la recherche fondamentale, à la rigueur scientifique tant au niveau des manipulations techniques que dans l'interprétation des résultats. Merci, merci, merci.

A Madame le Docteur Bénédicte Gérard pour m'avoir encadrée dans les manipulations techniques dans le laboratoire de génétique moléculaire, ainsi que pour ta disponibilité, je te suis vraiment reconnaissante. Merci pour nos discussions régulières et toujours enrichissantes.

A Monsieur le Professeur Jacques Elion pour m'avoir accueillie dans son laboratoire de génétique moléculaire et de biochimie, je vous exprime toute ma reconnaissance.

A Madame le Professeur Brigitte Benzacken qui m'a, en m'ouvrant les portes de son laboratoire de cytogénétique, permis de réaliser ce travail, je vous exprime ici ma gratitude.

A l'ensemble de l'équipe de cytogénétique: Céline Dupont, Azzedine Aboura, Anne-Claude Tabet, merci pour votre accueil, vos conseils et votre sympathie.

A Emmanuel Ecosse et au Professeur Joël Coste, avec qui nous avons travaillé les statistiques, soyez assuré de ma profonde gratitude.

A Madame le Docteur Louisa Dandolo pour avoir été disponible pour discuter du sujet de ma thèse, je vous remercie sincèrement.

A mes collègues et amies du laboratoire : Djamila Meguellati-Hakkas, Fabienne Landier Caroline Arnaud-Sarthou, pour tous ces moments partagés de complicité de rire et parfois de doutes. En particulier à Diana Bolca, Vean Eng Ly, Lamia Kerdjana, pour leur contribution à la réalisation de cette thèse, merci beaucoup à vous trois.

A tous mes amis, en particulier à Wanda, Carine, Manuel, Anne, pour tous les bons moments passés ensemble.

A mes parents, Igor mon mari et nos enfants chéris Manon et Jean.

VARIATIONS PHÉNOTYPIQUES DU SYNDROME DE TURNER ET ORIGINE PARENTALE DU CHROMOSOME X

A- INTRODUCTION

1- LE PHENOTYPE

1.1 Syndrome de Turner

1.2.1- Définition, diagnostic de certitude

1.2.2- Diagnostic anténatal :

- sur signes d'appels échographiques
- fortuit

1.2.3- Diagnostic post natal

1.2 Le phénotype, les pathologies associées du syndrome de Turner

1.2.1- La taille et les anomalies osseuses

1.2.2- Les pathologies cardio-vasculaires

1.2.3- L'insuffisance ovarienne

1.2.4- La qualité de vie, estime de soi, dépression

1.2.5- Les capacités cognitives

1.2.6- Les signes dermatologiques

1.2.7- Les anomalies ORL et ophtalmologiques

1.2.8- Les anomalies endocriniennes

1.2.9- Les problèmes digestifs

1.2.10- Les anomalies rénales

1.2.11- Le risque de néoplasies

1.2.12- L'espérance de vie

1.2.13- Fréquences des signes cliniques

1.3 Rôle des traitements par estrogènes et par hormone de croissance

1.4 Prise en charge pratique

1.5 Transition et syndrome de Turner

2- RELATIONS CARYOTYPE/PHENOTYPE

2.1 Les différents caryotypes et les relations avec le phénotype

2.2 Les mécanismes génétiques des différentes atteintes dans le ST

2.2.1- Haplo-insuffisance du gène SHOX et phénotype

2.2.2- Insuffisance ovarienne

2.2.3- Lymphoedème

2.2.4- Neurocognitif

2.3 Mécanismes entraînant l'anomalie du nombre des chromosomes

2.3.1- Origine méiotique

2.3.2- Origine post-zygotique

2.4 Détecter le mosaïcisme

3- CHROMOSOME X ET EMPREINTE PARENTALE

3.1 L'inactivation de l'X

3.1.1- Corpuscule compact

3.1.2- Mosaïque cellulaire

3.1.3- Centre d'inactivation

3.1.4- Comptage approprié

3.1.5- ARN non codants

3.1.6- Marques épigénétiques

3.1.7- D'un mammifère à l'autre

3.2 Empreinte parentale et gamétogénèse

3.3 Particularités du chromosome X

3.3.1- Gènes échappant à l'inactivation

3.3.2- Biais d'inactivation de l'X

3.3.3- Unidisomie du chromosome X

3.3.4- Empreinte et chromosome X

4- SYNDROME DE TURNER ET ORIGINE PARENTALE DU CHROMOSOME X

B- OBJECTIFS DU TRAVAIL

C- RESULTATS

1- Article 1 : *Determinants of medical care for young women with Turner syndrome*

1.1 Introduction

1.2 Article 1

1.3 Matériel et méthode

1.4 Résultats

1.5 Discussion

2- Article 2 : *Turner syndrome and parental origin of the X chromosome*

2.1 Introduction

2.2 Article 2

2.3 Matériel et méthode

2.3.1- Mise en place de l'étude

2.3.2- Génétique

2.3.2.1 Obtention de l'ADN

2.3.2.1.a Extraction d'ADN

2.3.2.1.b Pré-amplification de l'ADN

2.3.2.2 Microsatellites

2.3.2.2 .a Principe de la technique

2.3.2.2.b Choix des microsatellites

2.3.2.2.c PCR généralités

2.3.2.2.d Conditions de PCR

2.3.2.2.e Analyse des fragments

2.3.2.3 Exclusion de mosaïcisme: FISH

2.3.2.3.a Mise en culture du sang

2.3.2.3.b Préparations chromosomiques sur lames

2.3.2.3.c Hybridation in situ fluorescente

2.3.3- Résultats de génétique

2.3.3.1 Obtention de l'ADN

2.3.2.2 Microsatellites: taux d'hétérozygotie

2.3.2.3 Exclusion de mosaïcisme: FISH

2.3.2.4 Attribution de l'origine parentale

2.4 Discussion

D- DISCUSSION GENERALE

E- CONCLUSION

F- BIBLIOGRAPHIE

G- RESUME

ABREVIATIONS

ALAT : Alanine aminotransférase

ASAT : Aspartate aminotransférase

DS : Déviation standard

FISH : Hybridation *in situ* fluorescente

FSH : Follicle stimulating hormon

gamma-GT : Gamma-glutamyltransférase

GH : Growth hormone

HDL : High-density lipoproteins

LDL : Low-density lipoproteins

LH : Luteinizing hormone

PCR : polymerase chain réaction

ST : Syndrome de Turner

T4L : Thyroxine libre

TPO : Thyroperoxydase

TSH : Thyroid stimulating hormone

A- INTRODUCTION

Le syndrome de Turner, lié à une monosomie du chromosome X, est marqué par une petite taille et une insuffisance ovarienne. La possibilité, à partir des années 90, parallèlement au traitement substitutif estro-progestatif, d'améliorer la taille finale des femmes ayant un syndrome de Turner grâce au traitement par hormone de croissance, a impliqué un suivi régulier et une attention particulière portée par les endocrinologues pédiatres.

Les femmes ayant un syndrome de Turner, ont, tout au long de leur vie, une mortalité et une morbidité augmentées, des recommandations ont donc détaillé le suivi médical. Cependant comme aucune évaluation de ce suivi 'dans la vraie vie' n'avait été effectuée; nous avons évalué le suivi médical des jeunes femmes ayant un syndrome de Turner à la période charnière de transition entre la pédiatrie et la médecine adulte.

Par ailleurs, l'observation d'une très grande variabilité phénotypique chez ces femmes imposait une meilleure compréhension des relations génétique/phénotype en vue d'améliorer la prise en charge. En effet, le phénotype des femmes ayant un syndrome de Turner est très variable, allant de femmes avec presque aucune anomalie phénotypique à des phénotypes beaucoup plus marqués. L'identification de différentes anomalies caryotypiques a permis d'expliquer une partie des anomalies physiques, et d'identifier certains gènes impliqués dans le phénotype. Cependant la question du rôle de l'origine parentale du chromosome X dans les variations phénotypiques restait entière, nous avons abordé cette question grâce aux données d'une importante cohorte de femmes ayant un syndrome de Turner.

Je décris, dans la première partie la grande diversité clinique des femmes ayant un syndrome de Turner et les connaissances actuelles des liens phénotype/génotype du syndrome.

Les résultats de mes travaux sur le suivi médical des femmes ayant un syndrome de Turner (ont fait l'objet d'une publication) et de l'étude plus fondamentale sur le rôle de l'origine parentale du chromosome X dans le phénotype des femmes ayant un syndrome de Turner (en cours de soumission), sont présentés dans la deuxième partie.

La dernière partie est consacrée à la discussion des résultats et aux perspectives qu'ils offrent.

Du phénotype au génotype du syndrome de Turner : connaissances actuelles.

1- LE PHENOTYPE

Il existe une importante variabilité phénotypique, pré et/ou post natale des filles ayant un syndrome de Turner. Les traitements actuels estro-progestatifs et par hormone de croissance contribuent à modifier le phénotype de ces femmes. Les femmes ayant un ST (due à une monosomie plus ou moins complète du chromosome X) nécessitent un suivi médical régulier aussi bien à l'âge pédiatrique qu'à l'âge adulte, incluant la période charnière de la transition.

1.1 Syndrome de Turner

1.2.1- Définition, diagnostic de certitude

Même si la première description de fille ayant un impubérisme et une petite taille évoquant le syndrome date de 1749 (Morgagni 1682-1771), c'est en 1938 qu'Henri Hubert Turner rapporta une série de 7 femmes ayant des symptômes communs et donna son nom au syndrome de Turner (Turner 1938).

En 1959, l'anomalie caryotypique caractérisée par l'absence d'un des deux chromosomes X est mise en évidence.

Ce syndrome atteint environ 1/2500 filles à la naissance (Nielsen and Wohler 1991).

Le syndrome de Turner se définit par la présence de signes cliniques caractéristiques chez des individus phénotypiquement féminins associée à l'absence complète ou partielle du second chromosome X avec ou sans mosaïcisme cellulaire (Ferguson-Smith 1965). Les personnes ayant un phénotype masculin sont exclus du diagnostic quel que soit le caryotype. La recherche de matériel chromosomique Y (FISH ou PCR) est faite uniquement en cas de virilisation et/ou présence d'un chromosome marqueur (petit fragment chromosomique d'origine indéterminée) sur le caryotype. La présence de matériel Y implique une gonadectomie car il existe un risque de gonadoblastome (dans environ 12% des cas) (Cools, Drop et al. 2006). Une évaluation clinique est donc nécessaire pour diagnostiquer les individus ayant un syndrome de Turner.

Le diagnostic de certitude est établi sur le caryotype (sang, liquide amniotique...). Une analyse sur 30 cellules en métaphase est recommandée en 2007. Une étude par technique d'hybridation in situ fluorescente (FISH) (sang, frottis buccal) est souvent

réalisée en complément par les laboratoires de cytogénétique en cas de forme homogène avec monosomie 45,X pour éliminer un éventuel mosaïcisme sur un nombre plus important de noyaux cellulaires (100-200 cellules) (Wiktor and Van Dyke 2005). Un second tissu (frottis buccal, peau) peut aussi être analysé si il y a une forte suspicion clinique de syndrome de Turner avec un caryotype sanguin normal.

1.2.2- Diagnostic anténatal

Durant la grossesse, la quasi-totalité des embryons atteints de ST est éliminée *in utero* et représente 10 à 20 % des avortements spontanés précoces. On estime qu'environ 1 % seulement des monosomies de l'X sont viables.

- Diagnostic sur des signes d'appel échographiques :

Cela représente 70% des cas en France. Il peut s'agir, d'une augmentation de la clarté nucale (qui peut aussi être observée dans les syndromes de trisomie autosomique) ; la présence d'un hygroma kystique cervical (visualisable dès la 12^{ème} semaine d'aménorrhée), rend le diagnostic de ST plus probable (Nicolaidis, Azar et al. 1992).

L'évolution peut se faire vers un tableau d'anasarque et une interruption médicale de grossesse est alors souvent effectuée.

Aux 2^{ème} et 3^{ème} trimestres des anomalies viscérales doivent être recherchées. Les plus fréquentes (plus de 50% des cas) sont des anomalies urologiques : duplication pyelocalicielle, malrotation ou ectopie des reins, hypoplasie ou aplasie rénale, rein en 'fer à cheval' ou simple pyélectasie. Les anomalies cardiaques sont difficiles à dépister et dominées par la sténose de l'arc aortique et l'hypoplasie du cœur gauche. Dans 10% des cas, l'anomalie échographique conduisant à la découverte de ce syndrome est un retard de croissance intra-utérin observé au 2^{ème} trimestre.

Dans 80% des cas de diagnostic échographique de syndrome de Turner, la grossesse est arrêtée (Baena, De Vigan et al. 2004).

- Diagnostic fortuit

Il est fait sur âge maternel et/ou marqueur sériques élevés (α foeto-protéine, gonadotrophine chorionique humaine (hCG), oestriol non conjugué) (Ruiz, Lamm et al. 1999) lors d'une amniocentèse ou d'un prélèvement de villosités choriales. Il s'agit

surtout de formes mosaïques avec un phénotype moins marqué.

Au total : Les filles dont le diagnostic anténatal de monosomie 45,X a été fait devant des anomalies échographiques auront plus de risque d'avoir des signes cliniques de ST que celles qui ont un caryotype mosaïque détecté de façon systématique pour âge maternel avancé. Cependant, le devenir post natal et le caryotype constitutionnel des ST diagnostiqués en prénatal sont incertains. Il est donc utile de refaire un caryotype chez tous les nouveaux nés (Koeberl, McGillivray et al. 1995) (Gunther, Eugster et al. 2004).

1.2.3- Diagnostic post natal

Les filles pourront avoir un diagnostic de ST en période néonatale devant un lymphoedème des mains et des pieds, une nuque épaisse (séquelles de l'hygroma kystique in utero), des anomalies du cœur gauche (coarctation aortique, bicuspidie aortique, hypoplasie du cœur gauche, etc.), et/ou un phénotype clinique évocateur de ST.

D'autres auront un diagnostic pendant l'enfance devant une petite taille ; le ST est la cause la plus fréquente de petite taille chez les filles (petite taille familiale mise à part). Des épisodes d'otites à répétition devront faire évoquer le syndrome, surtout dans un contexte de petite taille ou de phénotype clinique évocateur.

Chez la plupart des autres patientes, le diagnostic sera fait ou dans l'adolescence devant un retard pubertaire, un arrêt du développement pubertaire, une aménorrhée primaire ou secondaire ou à l'âge adulte devant des difficultés de procréation.

L'âge du diagnostic reste élevé ; dans l'étude de Stockholm (Stochholm, Juul et al. 2006), effectuée entre 1970 et 2001 au Danemark, l'âge médian du diagnostic est de 15,1 ans, avec 15% des diagnostics faits avant l'âge de 1 an, 33% pendant l'adolescence et 38% à l'âge adulte.

1.2 Le phénotype, les pathologies associées du syndrome de Turner

1.2.1- La taille et les anomalies osseuses

La moitié des patientes ont un retard de croissance intra-utérin (RCIU), plus prononcé pour la taille que pour le poids associé à un périmètre crânien conservé.

Le retard statural, quasi constant dans le syndrome de Turner (95%), est responsable d'une réduction spontanée de la taille adulte d'environ 20 cm par rapport aux femmes de même origine ethnique. En France, la taille moyenne adulte est de $142,5 \pm 5,5$ cm (Lyon, Preece et al. 1985) (Cabrol, Saab et al. 1996) ([Annexe 1](#) : Courbe de croissance des femmes ayant un syndrome de Turner); les tailles finales sont de $146,9 \pm 7,8$ cm en Suède (Rongen-Westerlaken, Corel et al. 1997) et de $139,5 \pm 3,5$ cm au Japon (Suwa 1992).

La sécrétion d'hormone de croissance est normale, une hypothyroïdie sera à rechercher car elle peut majorer la petite taille.

Le ralentissement statural est progressif et survient en moyenne à partir de l'âge de 18 mois (Davenport, Punyasavatsut et al. 2002). La plupart des patientes ne seront pas les plus petites en maternelle mais auront une baisse significative de leur vitesse de croissance à l'école primaire.

Les anomalies osseuses sont en partie responsables du phénotype : classiquement, le cou est court, les vertèbres cervicales hypoplasiques, les jambes courtes avec une disproportion entre le segment supérieur et inférieur, le thorax large avec écartement des mamelons (qui peuvent être ombiliqués). On peut observer un cubitus valgus (50 %), un genu valgum, une scoliose (10 %), une cyphose.

Plus rarement, il existe une déformation en baïonnette du poignet (déformation de Madelung). Des anomalies osseuses plus discrètes (brachymétacarpie du 4^{ème} métacarpien, pincement de l'épiphyse radiale, ascension de la styloïde radiale, fermeture de l'angle carpien, trame osseuse grillagée) sont souvent visibles sur les radiographies de main effectuées pour déterminer la maturation osseuse et peuvent être le mode révélateur du ST (Tauber, Lounis et al. 2004). Des anomalies de la face sont également notées avec un palais ogival, des anomalies dentaires, un micrognathisme, un épicanthus, des oreilles implantées bas (qui peuvent être malformées) (Clement-Jones, Schiller et al. 2000).

Certaines études rapportent l'existence d'une ostéoporose dès l'enfance et 25 % des patientes présenteraient une réduction de la densité osseuse à l'âge adulte (Han, Cadge et al. 2006) (Landin-Wilhelmsen, Bryman et al. 1999); le risque relatif d'ostéoporose serait de 10 (2,2-30,9) entre les femmes ayant un ST et la population générale et le risque relatif de fracture ostéoporotique de 2,6 (1,4-4,6) (Gravholt, Juul et al. 1998).

1.2.2- Les pathologies cardio-vasculaires

Physiopathologie Une forte association entre les anomalies cliniques du cou et l'existence d'une cardiopathie a été mise en évidence chez 134 patientes ayant un syndrome de Turner (Loscalzo, Van et al. 2005). Par ailleurs, les fœtus décédés d'une insuffisance cardio-vasculaire ont presque toujours une obstruction des lymphatiques jugulaires avec un hygroma kystique ; pour certains, cet hygroma causerait les problèmes cardiaques par compression (Clark 1984).

Au niveau histologique, un épaississement de l'intima media carotidienne, une altération de la distensibilité aortique sans dysfonction endothéliale sont rapportées (Ostberg, Donald et al. 2005).

Anomalies : En moyenne, 11% des femmes auraient une coarctation de l'aorte et 16% une valve aortique bicuspidie dans des études qui comprennent respectivement 134 patientes (Loscalzo, Van et al. 2005), 179 patientes (Gotzsche, Krag-Olsen et al. 1994), et 55 patientes (Mazzanti, Prandstraller et al. 1988). Des résultats presque similaires sont retrouvés par (Volkl, Degenhardt et al. 2005) qui, parmi les 117 patientes étudiées a retrouvé 30% d'anomalie cardiaque, avec autant (18%) de coarctation de l'aorte que de bicuspidie aortique.

Le risque de la bicuspidie de la valve aortique est l'endocardite infectieuse, la sténose aortique ou la régurgitation. Ce risque est associé aux anomalies du mur aortique incluant la dilatation de l'aorte ascendante, la formation d'anévrisme et la dissection aortique.

D'autres anomalies cardio-vasculaires ont été décrites : presque 50% des 85 femmes avec syndrome de Turner asymptomatiques auraient en fait des anomalies visibles à l'angio-IRM : une élongation et angulation de l'arche aortique transverse qui pourrait être un facteur favorisant de dissection aortique, des anomalies des retours veineux pulmonaires partiels, des persistances de la veine cave supérieure gauche (Ho, Bakalov et al. 2004) ; il peut aussi y avoir des anomalies mitrales (ballonisation, 'parachute'), des dysplasies valvulaires aortiques sans bicuspidie. La coarctation aortique peut ne pas être détectée dans l'enfance mais seulement chez les jeunes adultes ou les adultes. L'IRM permet l'identification de cas non vus à l'échographie (Chalard, Ferey et al. 2005) (Castro, Okoshi et al. 2002) (Ostberg, Brookes et al. 2004) (Ho, Bakalov et al. 2004) (Dawson-Falk, Wright et al. 1992).

Examens complémentaires : On notera que les examens complémentaires sont discutés : les recommandations internationales de 2007 (Bondy 2007) recommandent une IRM pour toutes les femmes ayant un Turner alors que dans les recommandations françaises de l'HAS (PNDS 2008) cela dépend de l'avis du cardiologue (si l'échographie est considérée satisfaisante, l'IRM n'est pas systématique) sauf avant une grossesse : une angio-IRM est alors indiquée (Christin-Maitre 2008).

Les normes du calibre aortique sont discutées car les études sont peu nombreuses, selon l'HAS (PNDS 2008) il est souhaitable de recourir à un avis médico-chirurgical spécialisé en cas de calibre aortique supérieur à 35 mm et/ou supérieure à 25 mm/m² de surface corporelle et/ou en cas de progression du calibre aortique de plus de 10% par an.

Mortalité : Les pathologies cardio-vasculaires sont la principale cause de mortalité chez les femmes ayant un syndrome de Turner. La dissection aortique, précédée en général d'une dilatation aortique, est responsable de 2 à 8% des décès selon les séries; elle survient à un âge moyen de 35 ans (Gravholt, Landin-Wilhelmsen et al. 2006).

L'hypertension affecte 25% des adolescents et un nombre plus important d'adultes (40 à 60%) (Elsheikh, Casadei et al. 2001) (Nathwani, Unwin et al. 2000).

75 patientes de 5.4-22.4 ans, ayant porté holter tensionnel durant 24h ont révélé, pour 17% une hypertension diastolique et pour 21% une hypertension systolique (Nathwani, Unwin et al. 2000). De même, un holter tensionnel posé durant 24h chez 8 femmes ayant un ST de 29.5 +/- 5.3 ans a permis de détecter des tensions artérielles nocturnes augmentées et un ratio tension artérielle nuit/jour augmenté (Gravholt, Hansen et al. 2006).

L'hypertension artérielle est le plus souvent essentielle mais une anomalie rénale ou cardiologique présente dans 20% des cas doit être exclue. Elle affecte principalement la pression systolique qui ne chute pas pendant la nuit. Son mécanisme n'est pas clairement identifié : une augmentation de l'activité rénine plasmatique a été trouvée dans 50% des cas chez certains auteurs (Nathwani, Unwin et al. 2000), une dysfonction neuro-végétative pourrait être en cause (Gravholt, Hansen et al. 2006).

Le dépistage et la surveillance sont faits par holter tensionnel et un traitement est instauré si besoin.

Des anomalies électrocardiographiques de type troubles de la conduction ou de la repolarisation ont été décrites et sont rapportées à une dysfonction neuro-végétative. Un allongement du QT a été rapporté dès l'âge pédiatrique (Bondy, Cenicerros et al. 2006).

1.2.3- L'insuffisance ovarienne

La dysgénésie gonadique est un signe cardinal du syndrome de Turner.

L'ovaire fœtal dans le syndrome de Turner commence normalement son développement, par la migration des cellules germinales primordiales, à partir de l'épithélium coelomique puis la colonisation de la gonade primitive. Les cellules germinales primordiales prolifèrent (mitoses) et entrent en méiose vers 10-14 semaines. Puis une apoptose précoce et accélérée des cellules germinales survient et entraîne une fibrose du stroma et une dégénérescence gonadique en bandelette fibreuse (Weiss 1971). Le syndrome de Turner est, au niveau ovarien une maladie du stock de la réserve folliculaire : la méiose inefficace entraîne une diminution du nombre d'ovocytes et donc une folliculogénèse faible.

L'absence de rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de FSH par la production d'inhibine B folliculaire explique l'élévation de la FSH.

L'insuffisance ovarienne est objectivée par des dosages de FSH > 20 UI/l, de LH > 20 UI/l et par un dosage d'hormone anti-müllérienne < 0,1 ng/ml.

Les menstruations spontanées sont moins fréquentes chez les patientes ayant une monosomie 45, X que chez celles ayant un caryotype mosaïque (Sybert and McCauley 2004).

Dans 23% des cas (Soriano-Guillen, Coste et al. 2005) une puberté peut débuter spontanément. L'évolution pubertaire dépendra du capital ovarien résiduel. Elle peut être incomplète. Des cas de fertilité spontanée sont exceptionnelles mais ont été publiées même chez les femmes ayant une monosomie 45,X (Mortensen, Rohde et al.); cependant dans une cohorte de 522 filles ayant un syndrome de Turner (Pasquino, Passeri et al. 1997), parmi les 3 grossesses observées, 2 nouveaux nés avaient des anomalies chromosomiques.

1.2.4- La qualité de vie, estime de soi, dépression

- Score de qualité de vie lié à la santé :

Les études qui comparent les scores de qualité de vie des femmes ayant un syndrome de Turner par rapport à la population générale du même âge retrouvent des scores de qualité de vie identique.

L'étude StaTur (Carel, Ecosse et al. 2005) a étudié la qualité de vie chez 891 jeunes femmes âgées de 22,6 ans en moyenne ($\pm 2,6$ ans), traitées par hormone de croissance et ayant eu, pour la majorité d'entre elles, une induction pubertaire. En utilisant une échelle de qualité de vie liée à la santé : SF-36 (Leplege, Ecosse et al. 1998), il n'a pas été retrouvé de différence de qualité de vie perçue liée à la santé entre les femmes ayant un syndrome de Turner et les femmes du même âge de la population française.

Dans un essai clinique mené en Hollande, Bannink EM (Bannink, Raat et al. 2006) a retrouvé, lui aussi, chez 49 femmes ayant un syndrome de Turner (traitées par hormone de croissance et ayant une puberté induite à un âge moyen de $12,9 \pm 1,1$ ans), âgées de $19,6 \pm 3$ ans, une qualité de vie identique (SF36 et TAAQOL) à la population de référence.

Une étude récente ne retrouve pas de différence de qualité de vie attribuable à l'hormone de croissance dans une cohorte de 111 femmes ayant un syndrome de Turner (mis à part moins de douleur) (Amundson, Boman et al. 2010).

- Evaluation de la dépression et de l'anxiété :

Les études, bien que certaines soient anciennes et présentent des biais de recrutement, restent controversées concernant la dépression et l'anxiété : certaines retrouvent des scores de dépression hauts (McCauley, Sybert et al. 1986; Pavlidis, McCauley et al. 1995) et d'autres bas (Downey, Ehrhardt et al. 1989).

van Pareren, montre que, 50 femmes ayant un syndrome de Turner, traitées par hormone de croissance et induction pubertaire, à l'âge de $18,8 \pm 3$ ans ont des scores de dépression identiques aux témoins (van Pareren, Duivenvoorden et al. 2005). Par contre, il a été retrouvé dans l'étude StaTur moins de cas de trouble psychiatrique mineur tel l'anxiété et la dépression chez les femmes ayant un syndrome de Turner (24% des femmes) que dans la population générale du même âge (31%) (Carel, Ecosse et al.

2005) en utilisant le score détresse psychologique 'General Health Questionnaire 12' GHQ-12.

- Echelle d'estime de soi

Dans les différentes études l'estime de soi est retrouvée plus basse chez les femmes ayant un syndrome de Turner par rapport à la population générale (Boman, Moller et al. 1998) (Schmidt, Cardoso et al. 2006); dans la cohorte StaTur (Carel, Elie et al. 2006), les femmes ayant un syndrome de Turner ont un score d'estime de soi (Coopersmith 1981) plus bas que la population générale. Les mêmes conclusions sont retrouvées en utilisant une autre score : 'Harter Self perception profile' chez 50 femmes avec syndrome de Turner (van Pareren, Duivenvoorden et al. 2005). De plus, les femmes ayant un syndrome de Turner sont plus isolées socialement (Amundson, Boman et al. 2010). On sait que les femmes ayant un syndrome de Turner vivent moins en couple, se marient moins, ont des relations sexuelles plus tardives que la population du même âge (Rolstad, Moller et al. 2007) (Boman, Moller et al. 1998).

1.2.5- Les capacités cognitives

La majorité des femmes ayant un syndrome de Turner ont une intelligence globale identique à la population générale, mise à part les femmes avec un chromosome X en anneau avec disparition du centre de l'inactivation de l'X, qui ont une forte augmentation de fréquence de retard mental. Environ 10% des patientes, quel que soit le caryotype, présentent un déficit intellectuel nécessitant une scolarité spéciale et une aide durant la vie adulte.

Les filles ayant un ST ont des difficultés concernant les capacités visuo-motrices, les capacités visuo-spatiales, la mémoire non verbale, l'attention, les fonctions exécutives, les interactions sociales et les capacités d'adaptation (Ross, Zinn et al. 2000) (Rovet 2004).

- 1) Les capacités visuo-motrices telles écrire et copier des dessins peuvent être altérées. Les femmes qui ont un ST ont parfois des difficultés concernant la motricité fine responsables de maladresse.

- 2) Les déficits visuo-spatiaux posent aussi problème dans la conduite automobile. Les difficultés d'orientation spatiotemporelles et en mathématiques (géométrie dans l'espace entre autres) (Mazzocco 1998) (Bruandet, Molko et al. 2004), apparaissent tôt.
- 3) Il peut exister des difficultés d'apprentissage non verbal (Ross, Stefanatos et al. 2002).
- 4) Des troubles de l'attention associés à une hyperactivité peuvent être présents (24% des ST) et serait 18 fois plus fréquent chez les filles ayant un ST que les filles dans la population générale et 4,8 fois plus fréquent que chez les garçons (Russell, Wallis et al. 2006).
- 5) Les fonctions exécutives telles planifier et résoudre un problème peuvent être altérées. Les femmes ayant un ST pourraient échouer dans la résolution de problèmes mathématiques et dans les travaux demandant une réponse rapide (Kirk, Mazzocco et al. 2005) et du multi tâche.
- 6) Les patientes atteintes de syndrome de Turner pourraient mal interpréter les signaux sociaux et le langage du corps (McCauley, Kay et al. 1987) (Lawrence, Kuntsi et al. 2003) ce qui contribuerait à la gaucherie des interactions sociales ; un soutien particulier à l'interprétation des signaux sociaux pourrait aider ces patientes.
Elles ont en particulier des difficultés pour reconnaître les expressions de peur (et de colère) sur les visages et ne fixent pas les yeux des photos de personnes exprimant la peur lors de tests (Mazzola, Seigal et al. 2006) (Skuse, Morris et al. 2005).
Pendant l'adolescence, une plus grande immaturité et plus d'isolement social sont décrits (McCauley, Feuillan et al. 2001) (Rovet and Ireland 1994). Les patientes semblent avoir plus d'intolérance au changement.

Les capacités verbales sont normales (Mazzocco, Thompson et al. 2006), et de nombreuses adultes ont un niveau d'étude universitaire (Verlinde, Massa et al. 2004). Beaucoup réussissent dans leurs carrières professionnelles même si les femmes ayant un syndrome de Turner sont souvent employées en dessous de leur niveau d'étude.

L'imagerie cérébrale des femmes ayant un syndrome de Turner est de plus en plus précise mais les relations imagerie/phénotype ne sont pas encore claires (Skuse, Morris et al. 2005) (Molko, Cachia et al. 2004) (Raznahan, Cutter et al. 2010).

1.2.6- Les signes dermatologiques

Le lymphoedème serait responsable du ptérygium coli, du ptosis, de l'implantation basse des cheveux et de la coarctation de l'aorte. Un lymphoedème du dos des mains et des pieds est parfois noté à la naissance et diminue progressivement durant l'enfance, mais il peut persister jusqu'à l'adolescence ou après. Il existe alors une implantation anormale des ongles (dysplasie unguéale).

Les cicatrices chéloïdes sont fréquentes (d'autant plus qu'elles se situent dans le cou).

Les naevi pigmentaires multiples sont fréquents, sans que le risque de mélanome soit plus élevé. Des affections dermatologiques auto-immunes peuvent également être observées (psoriasis, vitiligo, alopecie).

1.2.7- Les anomalies ORL et ophtalmologiques

Une grande majorité des enfants avec syndrome de Turner ont des otites moyennes à répétition par anomalies structurales et fonctionnelles des trompes d'Eustache, nécessitant une pose de drains trans-tympaniques et/ou une adénoïdectomie. La fréquence des infections ORL diminue avec l'âge et la croissance du massif facial.

De fréquentes hypoacusies, responsables de difficultés scolaires, sont favorisées par ces otites à répétition. La fréquence des surdités augmente avec l'âge (Hultcrantz 2003). 60% ont un problème auditif clinique à l'âge médian de 45,5 ans dans une cohorte de 44 femmes et 90% ont une perte d'audition neurosensorielle sur l'audiogramme (Hultcrantz, Sylven et al. 1994). La cause de cette surdité est mal connue ; elle serait due à un processus de vieillissement prématuré.

Un strabisme cliniquement significatif survient chez 18% des patientes et un ptosis chez 13% d'entre elles. Hypertélorisme, épicanthus et fentes palpébrales anti-mongoloïdes peuvent être présents. Cataracte et nystagmus sont également plus fréquents que dans la population générale. La dyschromatopsie rouge-vert est aussi fréquente que chez l'homme (Chrousos, Ross et al. 1984).

1.2.8- Les anomalies endocriniennes

Une hypothyroïdie survient chez 15 à 30% des femmes ayant un syndrome de Turner (Elsheikh, Wass et al. 2001) (Germain and Plotnick 1986), alors que les anticorps antithyroïdiens sont positifs chez 50% d'entre elles. Elle peut débuter dans l'enfance (5 à 10% des cas surviennent avant l'adolescence), et sa fréquence augmente avec l'âge (l'âge moyen de début se situe dans la troisième décennie) : 24% des 84 enfants avec un ST (0-19 ans) qui ont été suivis pendant 8 ans ont développé une hypothyroïdie et 2,5% une hyperthyroïdie (Livadas, Xekouki et al. 2005), les thyrotoxicoses sont en effet rares (environ 3%).

Les patientes ayant un syndrome de Turner sont plus disposées à développer un syndrome métabolique avec hypertension, dyslipidémie, diabète non insulino-dépendant, obésité avec augmentation de la masse grasse et diminution de la masse musculaire, hyperinsulinisme et hyperuricémie. Il y a aussi une augmentation aussi du diabète de type 1 auto-immun. Dans une étude (Sybert 2001), un diabète est survenu chez 11 (3%) des 372 patientes ayant un ST âgées de plus de 5 ans (3 type 1 et 8 type 2). Le diabète de type 2 est commun chez les ST. Un test d'hyperglycémie provoquée par voie orale dévoile une intolérance glucidique ou un diabète dans plus de 50 % des cas, habituellement associé à un défaut de sécrétion d'insuline (Gravholt, Naeraa et al. 1998) (Bakalov, Cooley et al. 2004). La sensibilité à l'insuline peut être normale chez certaines patientes mais réduite chez celles qui ont une obésité ou une forte histoire familiale de diabète de type 2. Souvent, le diabète est relativement modéré et répond à la perte de poids ou à la monothérapie. Il y a des données contradictoires quant aux effets de l'hormone de croissance sur l'homéostasie du glucose chez les patientes ayant un syndrome de Turner et il n'y a peu de donnée sur les effets à long terme de la l'hormone de croissance recombinante.

1.2.9- Les problèmes digestifs

Les problèmes de nutrition, de reflux gastro-oesophagien et le défaut de prise de poids qui surviennent chez les nourrissons sont probablement des conséquences d'anomalies anatomiques oropharyngées et d'immaturité de la motricité orale (Mathisen, Reilly et al. 1992).

La prévalence des maladies inflammatoires digestives (rectocolites ulcéro-hémorragiques et maladie de Crohn) semblent être deux fois plus élevées que dans la population générale (Arulanantham, Kramer et al. 1980).

La prévalence atteint environ 6% des patientes avec un syndrome de Turner (Bonamico, Pasquino et al. 2002). La cause pourrait être liée à un dysfonctionnement immunitaire. Des cas de maladies coeliaques ont été rapportés (anticorps positifs plus souvent que symptomatiques) ainsi que des hémorragies digestives sur télangiectasies intestinales.

La fréquence des anomalies hépatiques biologiques (cytolyse fréquente asymptomatique et cholestase) est élevée et augmente avec l'âge (25% entre 10 et 20 ans, 80% après 40 ans (Larizza, Locatelli et al. 2000)).

L'atteinte hépatique associée au ST est souvent très peu évolutive, mais des rares cas de cirrhose hépatique et d'hypertension portale ont été décrits. Roulot D (Roulot, Degott et al. 2004) a décrit les anomalies histologiques chez 27 femmes ayant un syndrome de Turner et une perturbation du bilan hépatique à l'âge moyen de 43 ans, 4 avaient une hypertension portale, 2 une cirrhose, 11 une stéatose, 6 une hyperplasie nodulaire régénérative, 2 une hyperplasie nodulaire focale, 21 une cholangite sclérosante.

1.2.10- Les anomalies rénales

Les anomalies rénales sont présentes chez 30 à 40% des patientes : 33% (47/141) pour (Lippe, Geffner et al. 1988) et 39% (147/373) pour (Sybert and McCauley 2004): malposition rénale ou reins en fer à cheval, duplication des voies excrétrices, hydronéphrose asymptomatique sont dépistées par échographie précoce. En l'absence d'uropathie grave, la fonction rénale est normale.

1.2.11- Le risque de néoplasies

Il existerait une augmentation du risque relatif de cancer dans le syndrome de Turner. Une étude britannique (Schoemaker, Swerdlow et al. 2008) rapporte, à partir de l'étude de 3425 femmes ayant un syndrome de Turner entre 1959 et 2002, pour une durée de suivi moyenne de 17 ans, une augmentation du risque de gonadoblastome (risque cumulé 8%), de tumeur du système nerveux central (risque multiplié par 4), en particulier de méningiome (risque multiplié par 12 par rapport à la population générale), de tumeurs cérébrales dans l'enfance (risque x10), mais aussi de cancer de la vessie et de l'urètre

(risque x4), de mélanome, et de cancer de l'utérus mais une diminution du risque de cancer du sein.

Les cas de gonadoblastomes sont retrouvés chez des patientes ayant un chromosome Y; la gonadectomie prophylactique est alors dans ces cas recommandée. Les carcinomes endométriaux semblent survenir chez des patientes qui ont reçu un traitement par œstrogènes sans progestatifs ou un traitement prolongé par diéthylstilbestrol.

1.2.12- L'espérance de vie

Une étude danoise montre que la mortalité est trois fois plus élevée chez les patientes ayant un syndrome de Turner que dans la population générale à tous les âges et pour toutes les causes de décès (Stochholm, Juul et al. 2006). Ce risque augmente fortement chez les patientes âgées. Les taux de mortalité standardisés sont plus élevés pour les malformations congénitales et les maladies endocriniennes entre autres (Stochholm, Juul et al. 2006).

1.2.13- Fréquences des signes cliniques

Tableau 1 extrait de (Davenport 2010) : Fréquences et étiologies des signes cliniques du ST

Haploinsufficiency of genes on the X chromosome					
Frequency	SHOX		Putative lymphatic gene	Germ cell survival genes	Other/unknown
	Physical	Medical			
Greater than 50%	Short stature Prominent ears Retrognathia Narrow palate	Growth failure Chronic otitis media Low BMD Fractures	Low posterior hairline Lymphedema Nail dysplasia	Infertility Gonadal failure Delayed puberty	Learning disability Unfavorable body composition
25–50%	Cubitus valgus Short fourth metacarpals Ptosis ^a Strabismus ^a	Feeding problem Sensorineural hearing loss ^a	Webbed neck		Renal malformation Hypertension Multiple nevi
10–25%	Epicanthal folds ^a Scoliosis Kyphosis Pectus excavatum	Obstructive sleep apnea Articulation problems	Single palmar crease Inverted nipples ^a		Hypothyroidism Aortic coarctation Bicuspid aortic valve Increased liver enzymes Diabetes mellitus Celiac disease Inflammatory bowel disease von Willebrand's disease JRA Pilomatrixoma Aortic dissection Prolonged QT
Less than 10%	Flat feet Genu valgum Madelung deformity Patellar dislocation	Hyperacusis			

JRA, Juvenile rheumatoid arthritis.

^a Relationship to haploinsufficiency not well established.

1.3 Rôle des traitements par estrogènes et par hormone de croissance

Traitement par hormone de croissance :

Résultats sur la croissance :

De nombreuses études ont montré que les traitements par hormone de croissance (GH) accélèrent la vitesse de croissance dans le syndrome de Turner, alors même que la sécrétion de GH n'est pas altérée dans ce syndrome. Des pays ont donc étendu les indications de traitement par GH au syndrome de Turner au début des années 1990. La posologie est fixée à 0,30-0,47 mg/kg par semaine et la date de début du traitement est fonction du retard statural de la patiente. Les premiers résultats concernant les tailles finales montrent un gain statural positif de 1,5 à 8,5 cm par rapport à la taille prédite selon la technique de Lyon (Lyon, Preece et al. 1985).

L'étude canadienne publiée en 2005 analyse l'effet du traitement (0,30 mg/kg par semaine) en comparaison à un groupe témoin randomisé (Stephure 2005). La différence

de taille adulte entre les deux groupes est de 7,3 cm (intervalle de confiance à 95 % de 5,4 à 9,2 cm) pour une durée de traitement de $5,7 \pm 1,6$ ans et un début de traitement par œstrogène à l'âge de 13 ans.

Les tailles finales après traitement se situent environ à 145 cm au Japon, 149 cm au Canada (Stephure 2005), 151 cm en France (Soriano-Guillen, Coste et al. 2005) ($150,9 \pm 6$ cm avec un gain moyen de 8,9 cm pour une durée de traitement de $4,8 \pm 2,2$ ans), 158 cm en Hollande (van Pareren, de Muinck Keizer-Schrama et al. 2003).

Paramètres influençant les résultats sur la croissance :

L'efficacité du traitement dépend principalement de sa précocité et de sa durée, mais aussi de la posologie utilisée (van Pareren, de Muinck Keizer-Schrama et al. 2003), du retard de la maturation osseuse au début du traitement, du nombre d'injections hebdomadaires, des tailles parentales, de la taille de naissance, de l'âge de début de la puberté et de la modalité du traitement oestrogénique (per os ou transcutané) (Chernausek, Attie et al. 2000) (Reiter, Blethen et al. 2001) (van Pareren, de Muinck Keizer-Schrama et al. 2003) (Soriano-Guillen, Coste et al. 2005). En effet, la taille adulte est plus élevée lorsque le traitement est débuté tôt, avant l'âge de 8-9 ans et lorsque le traitement dure plus de 4 ans (Quigley, Crowe et al. 2002) (Stephure 2005) (Reiter, Blethen et al. 2001) (Massa, Heinrichs et al. 2003) (Ranke, Lindberg et al. 2000). Il est à noter que certaines patientes (une minorité) atteignent une taille adulte dans les bornes de la moyenne de la population générale.

Traitement de l'insuffisance ovarienne :

Le traitement par oestrogènes est indispensable chez les patientes ayant une insuffisance ovarienne. Le but du traitement est d'induire le développement des caractères sexuels secondaires, sans accélérer le processus de soudure des cartilages de croissance. Le principe du traitement est d'imiter la puberté physiologique.

La date de début de traitement par oestrogènes est restée longtemps controversée. Avant les années 1980, les patientes n'étaient pas traitées par hormone de croissance et la puberté était induite tardivement (entre 15 et 18 ans). Certains prônaient un traitement oestrogénique précoce favorisant le côté psychosocial et d'autres un traitement tardif favorisant le côté auxologique (les oestrogènes étant impliqués dans la fusion épiphysaire). Pour Ross J. (Ross, Roeltgen et al. 1998), le fait de débuter un traitement oestrogénique plus tôt serait bénéfique, sur certains tests concernant les facultés

d'intégration visuo-spatiales, de perception visuelle et de temps de reconnaissance de visages mais ces dernières données restent à confirmer par des études complémentaires. Les études récentes (Soriano-Guillen, Coste et al. 2005) montrent qu'une initiation précoce du traitement par GH et une induction de la puberté à un âge physiologique permet d'obtenir une taille adulte optimale.

Il est préférable d'utiliser les oestrogènes naturels plutôt que les oestrogènes de synthèse. Quel que soit le mode d'administration (per os ou transdermique), la dose faible au début du traitement est augmentée progressivement jusqu'à une dose adulte après 2 à 3 ans de traitement. Il est recommandé de débiter par de faibles doses ($1/10^{\text{ème}}$ des doses substitutives de l'adulte). La dose est ensuite augmentée tous les 6 mois en fonction du résultat clinique sur le développement mammaire, la vitesse de croissance et la maturation osseuse.

Un traitement progestatif est débuté, pendant 10 à 15 jours par mois, après 18 à 24 mois de traitement oestrogénique. Il permet de minimiser les risques d'hyperplasie endométriale et d'adénocarcinome. On a recours de préférence à la progestérone naturelle (Utrogestan, Duphaston), plutôt qu'aux progestatifs de synthèse de type pregnane (Lutéran, Lutényl). Par la suite, un traitement combiné oestroprogestatif peut être proposé pour améliorer l'observance.

Le traitement est nécessaire pour maintenir une minéralisation osseuse et une vie sexuelle normale. Il améliore par ailleurs l'estime de soi et l'insertion sociale (Carel, Ecosse et al. 2005); il prévient l'ostéoporose et les maladies cardiovasculaires. Les effets de la substitution hormonale sur la fonction hépatique, la densité osseuse et sur le risque d'hypertension, de cancer, d'obésité chez les patientes ayant un syndrome de Turner sont incertains. Si des anomalies de la fonction hépatique (augmentation des transaminases, gamma GT, hypertriglycémie) peuvent être observées lors des traitements prolongés, elles existent également lors de carences oestrogéniques et peuvent être améliorées sous traitement substitutif.

L'annonce de l'insuffisance ovarienne est un cap difficile à franchir pour l'adolescente et très tôt on sera amené à discuter des nouvelles méthodes de procréation médicalement assistée. La cryoconservation du tissu ovarien est une technique nouvelle dont l'utilité, semble prometteuse dans le syndrome de Turner (Borgstrom, Hreinsson et al. 2009); ces techniques sont aujourd'hui restreintes à la recherche (apoptose précoce et fort taux de gamètes aneuploïdes). Des techniques par don d'ovocyte ont été utilisées dans le syndrome de Turner avec un succès équivalent à celui des autres femmes infertiles.

Cependant, le risque d'avortement est élevé (20-25%), probablement lié à une hypoplasie utérine. Une surveillance cardiologique avant, pendant et après la grossesse est nécessaire en raison du risque accru de dissection aortique.

1.4 Prise en charge pratique

La fréquence des anomalies du ST rend nécessaire une prise en charge multidisciplinaire tout au long de la vie et une surveillance régulière décrite dans les recommandations internationales. La surveillance comprend, entre autres, chez les adultes non malades pour la pathologie concernée: poids, taille, BMI, pression artérielle, hormones thyroïdiennes, enzymes hépatiques, bilan lipidique et glucidique annuellement; audiométrie, échographie cardiaque tous les 3 à 5 ans (Bondy 2007). Des recommandations nationales (PNDS 2008) ont été effectuées.

1.5 Transition et syndrome de Turner

Comme pour d'autres pathologies chroniques la période de transition entre la médecine pédiatrique (où le suivi est le plus souvent régulier entre autres grâce au traitement par hormone de croissance et par estro-progestatifs) et la médecine adulte peut être source d'arrêt ou de difficultés de poursuite du suivi médical. Cependant il y a très peu d'études qui évaluent objectivement ce suivi. En Belgique (Verlinde, Massa et al. 2004), une étude de 102 femmes de 23 ans en moyenne ayant un ST montre que 13% des femmes n'ont plus aucun suivi médical et que 14,5% des femmes qui le nécessiteraient ne prennent pas d'estro-progestatifs. Bondy C (Bondy, Bakalov et al. 2006) aux USA a étudié 126 femmes ayant un syndrome de Turner à l'âge moyen de 36 ans et note qu'un tiers des patientes ont eu au moins une fois dans leur vie une échographie cardiaque, une échographie rénale et une audiométrie alors qu'un autre tiers n'a jamais eu d'échographie cardiaque.

2- RELATIONS CARYOTYPE/PHENOTYPE

Le phénotype du ST varie en fonction du type d'anomalies chromosomiques, de la présence d'un mosaïcisme cellulaire et de l'implication de certains gènes découverts récemment sur le chromosome X. Nous évoquerons les mécanismes en cause dans la genèse du ST et les limites des moyens que nous possédons pour les mettre en évidence (difficultés de détection d'un mosaïcisme cellulaire).

2.1 Les différents caryotypes et les relations avec le phénotype

Le syndrome de Turner est une pathologie hétérogène. Environ la moitié des patientes ont une monosomie X (45,X), 5 à 10 % ont une duplication (isochromosome) du bras long d'un des X (46,X,i(Xq)) et la majorité des autres ont un mosaïcisme 45,X, avec une ou plusieurs autres lignées cellulaires. Les corrélations entre le caryotype et le phénotype sont limitées.

Les nourrissons ayant un caryotype 45,X ont plus souvent un lymphoedème congénital et peuvent avoir des oedèmes persistants (Sybert and McCauley 2004). Les patientes ayant une monosomie ont plus souvent des anomalies cardiaques (Gotzsche, Krag-Olsen et al. 1994).

Les patientes ayant une mosaïque 45,X/46,XX ou 45,X/47,XXX sont celles qui ont le plus souvent des règles spontanées et un potentiel de fertilité.

La présence d'un chromosome X en anneau est associée avec un risque accru de retard mental.

La présence de matériel chromosomique Y est associée à un risque de tumeur gonadique.

Les déficits portant sur les fonctions visuo-spatiales semblent plus fréquents chez les femmes ayant un caryotype 45,X homogène que chez celles ayant un caryotype mosaïque 45,X/46,XX. La surdité est mal connue, elle serait due à un processus de vieillissement prématuré et serait plus fréquente en cas de monosomie et d'isochromosome X.

La présence d'un isochromosome Xq est associée à une augmentation du risque d'hypothyroïdie auto-immune et de pathologie inflammatoire digestive (rectocolites ulcéro-hémorragiques et maladie de Crohn).

Tableau 2 extrait de (Sybert and McCauley 2004) : Signes cliniques principaux du ST en fonction du caryotype.

Karyotype	No. of Patients	Mental Retardation	Cardiac Disease†	Renal Malformation‡	Edema	Menses	Height§	
							number/total number (percent)	cm
All	532	55/500 (11)	169/319 (53)	147/373 (39)	165/461 (36)	64/288 (22)	148±7.1	149
45,X	241 (45)	19/230 (8)	94/154 (61)	84/181 (46)	141/217 (65)	13/128 (10)	147.3±6.0	64
46,X,i(Xq)	35 (7)	6/33 (18)	10/20 (50)	8/22 (36)	4/30 (13)	4/22 (18)	145.6±4.7	9
45,X/46,X,i(Xq)	40 (8)	3/34 (9)	7/24 (29)	10/38 (26)	0/26	4/26 (15)	143.4±7.9	14
45,X/46,X,+ring	32 (6)	10/30 (33)	14/22 (64)	6/27 (22)	3/27 (11)	2/16 (12)	145.7±4.9	7
45,X/46,X,+mar	5 (1)	4/5 (80)	1/2 (50)	1/3 (33)	1/4 (25)	0/1	—	
45,X/46,XY or 46,X,Yvar/Ydel	37 (7)	0/32	14/22 (64)	12/27 (44)	3/32 (9)	0/13	148.8±5.9	12
45,X/46,XX/47,XXX	17 (3)	0/24	1/10 (10)	3/12 (25)	1/17 (6)	5/9 (56)	144.9±7.7	6
45,X/47,XXX								
45,X/46,XX	70 (13)	5/65 (8)	17/43 (40)	17/44 (39)	9/61 (15)	14/35 (40)	149.7±7.5	22
46,X,Xp (short-arm deletions)	13 (2)	1/13 (8)	0/4	0/5	1/12 (8)	6/7 (86)	153±5.0	5
46,X,Xq (interstitial long-arm deletions)	9 (2)	0/9	ND	2/4 (50)	0/6	5/7 (71)¶	163±16.6	6
Other	33 (6)	7/32 (22)	11/18 (61)	4/20 (20)	2/29 (7)	6/20 (30)	149.9±7.4	15

* Data were obtained from patients in our Seattle clinic. Denominators reflect the number of patients for whom we have complete information for each feature. Plus-minus values are means ±SD. ND denotes no data.

† The category includes both structural malformations and hypertension. Patients with normal physical examinations who did not undergo echocardiography are omitted.

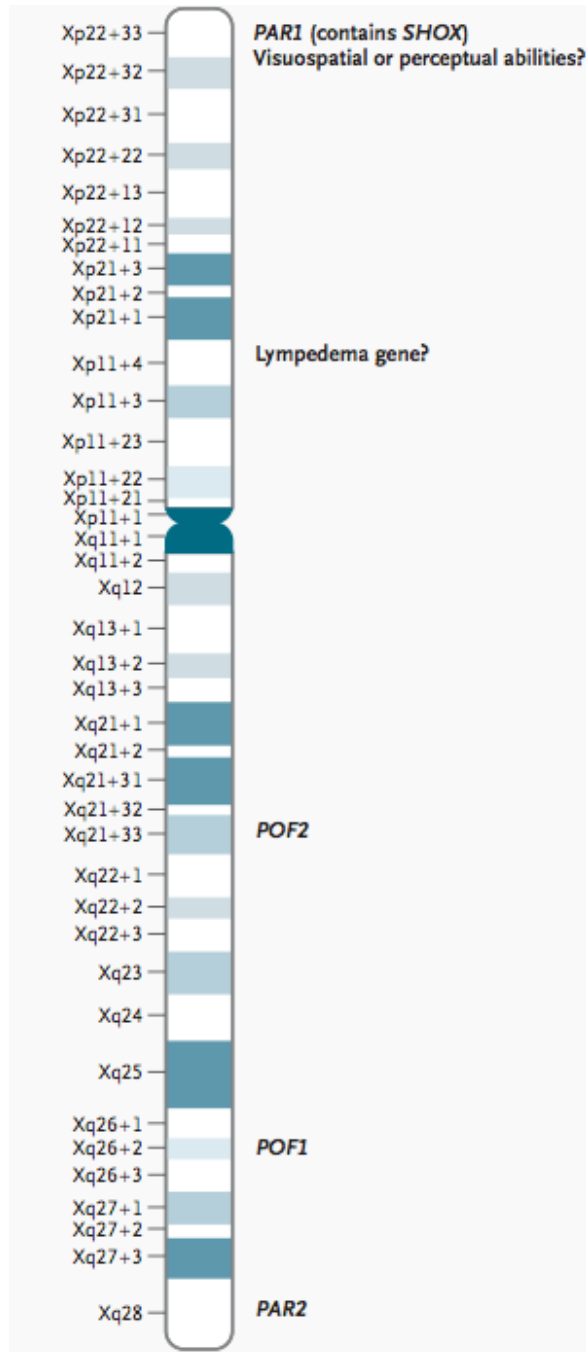
‡ The analysis includes patients with either renal-ultrasound or intravenous-pyelographic information.

§ The analysis does not include patients who received a diagnosis in adult life on the basis of recurrent pregnancy loss (four women; mean height, 167 cm). The analysis excludes patients who had received growth-promoting agents (oxandrolone, human growth hormone, or both).

¶ Secondary amenorrhea developed in all five patients with spontaneous menarche.

2.2 Les mécanismes génétiques des différentes atteintes dans le ST

Figure 1 d'après (Sybert and McCauley 2004) : localisation des régions PAR1 et PAR2 et des régions responsables en partie de phénotype du syndrome de Turner



2.2.1- Haplo-insuffisance du gène SHOX (Short stature HOmeoboX gene) et phénotype

Tableau 3 : Gène SHOX et phénotype

	Nanisme mésomélisque de Langer	Syndrome de Turner	Dyschondrostéose : Dysplasie mésomélisque de Leri et Weill	Petite taille 'idiopathique'	Klinefelter, triple X,...
Gène SHOX	Aucun	1 copie	Anomalie du gène	Anomalie du gène	3 copies ou plus
taille	Nanisme	142,5±5,5 cm	Femmes : 145 cm, hommes : 155 cm		(Ottesen, Aksglaede et al. 2010) Taille médiane en DS : +0.9 pour 47,XXY (n=129) +1.3 pour 47,XYY (n=44) +1.1 pour 48,XXYY (n=45) +1.8 pour 48,XXXY (n=9) +0.7 pour 47,XXX (n=40)
membres	Extrême mésomélie avec brièveté et incurvation des os de l'avant bras et aplasie ou hypoplasie du péroné et déformation du tibia. Il peut s'en suivre un déplacement et /ou une déformation des mains et des pieds.	Cf A 1.2.1	Cubitus valgus Brièveté des métacarpes Déformation du poignet de Madelung		Membres inférieurs longs, grande envergure des membres supérieurs
autres	Hypoplasie de la mâchoire inférieure		Micrognathie Palais ogival Scoliose Hypertrophie musculaire		

Les régions pseudo-autosomiques, homologues sur les chromosomes X et Y, portent un petit nombre de gènes (29, dont le gène SHOX, sur environ 1098 portés par le chromosome X) exprimés de façon biallélique avec des effets de dosage génique en cas d'haplo-insuffisance. Par exemple, la perte d'une copie de SHOX, isolée ou dans le cadre d'un syndrome de Turner, entraîne une petite taille, alors que la perte des deux copies entraîne un nanisme sévère avec dysmorphie (dysplasie de Langer) (Belin, Cusin et al. 1998). Une entité clinique appelée dyschondrostéose : dysplasie mésomélisque de Leri et Weill ne correspond en fait qu'à un continuum clinique des différentes pathologies incluant des anomalies de SHOX (Ross, Scott et al. 2001).

La fréquence des anomalies de SHOX et de la région PAR1 dans les cohortes de patients de retards staturaux dit idiopathiques est en fait très variable (entre 2 et 10%) et dépend des critères d'inclusion dans ces études (Rappold, Fukami et al. 2002; Huber, Rosilio et al. 2006); quand les signes cliniques d'anomalies de SHOX sont plus francs dans le cadre de la dysplasie mésomélisque de Leri et Weill, les anomalies génétiques de SHOX sont retrouvés dans 70% des cas (Niesler, Roth et al. 2007). Certains proposent un score qui permet de préciser quels patients en priorité devront bénéficier d'une recherche de mutation de SHOX parmi les petites tailles idiopathiques, sachant que les patients présentant des avant bras courts, des jambes courtes, un cubitus valgus, une déformation de Madelung, un palais ogival et une hypertrophie musculaire ont statistiquement plus d'anomalies génétiques sur SHOX que les autres (4,2% des 1608 personnes sélectionnées avec une petite taille dans cette cohorte (Rappold, Blum et al. 2007)).

Le gène SHOX n'est probablement pas le seul gène dont l'haploinsuffisance entraîne une petite taille. En effet il existe un déficit statural chez des patientes présentant des délétions entre Xp22.1 et Xp11.2 (Zinn, Tonk et al. 1998). Les délétions interstitielles du bras long de l'X entraînent, elles aussi, une petite taille, mis à part les délétions distales à Xq21 qui n'ont pas d'effet sur la taille. De nombreuses hypothèses sont évoquées : des facteurs génétiques globaux, les effets de gènes impliqués dans la croissance, des facteurs non spécifiques mécaniques,...

2.2.2- Insuffisance ovarienne

La pathogénie de l'insuffisance ovarienne chez les patientes à qui il manque tout ou une partie d'un chromosome X n'est pas encore très claire. L'insuffisance ovarienne est-elle

liée à l'haplo-insuffisance de gènes de survie de l'ovocyte sur l'X (USP9X, BMP15,...), à des anomalies de l'appariement des chromosomes ou de l'inactivation de l'X pendant la méiose des ovocytes fœtaux ? En effet, l'insuffisance ovarienne pourrait être liée à une impossible méiose des cellules germinales, pour qui deux chromosomes actifs sont nécessaires (contrairement aux cellules somatiques dans lesquelles le second X est inactivé) (Schlessinger, Herrera et al. 2002).

Le maintien de la fonction ovarienne est lié à l'existence de gènes situés sur le bras long du chromosome X, Xq26 (POF1) et Xq13-21 (POF2) (Davison, Fox et al. 2000).

Les personnes avec des délétions de la partie distale du bras long jusqu'en Xq24 ont souvent une aménorrhée primaire ou secondaire sans petite taille ou autre signe du syndrome de Turner (Maraschio, Tupler et al. 1996); le diagnostic d'insuffisance ovarienne prématurée est plus approprié pour elles. Les femmes ayant un certain type de délétion interstitielle du bras long ne comprenant pas POF1 ni POF2 (Sybert and McCauley 2004) sont à faible risque d'insuffisance ovarienne. Les délétions Xp entraînent un phénotype ovarien complet, sauf les délétions très distales qui sont parfois compatibles avec une fonction ovarienne normale (Zinn, Tonk et al. 1998) (Ogata, Muroya et al. 2001).

2.2.3- Lymphoedème :

Ce sont les enfants monosomiques 45,X qui ont l'incidence du lymphoedème congénital la plus élevée (Sybert and McCauley 2004) (2/3 des cas). La région Xp11.4 jouerait un rôle dominant dans le développement du lymphoedème (Boucher, Sargent et al. 2001).

Il est probable que les anomalies attribuables au lymphoedème ne soient pas dues seulement à l'action d'un gène haplo-insuffisant.

2.2.4- Neurocognitif :

Ross a mis en évidence une région au niveau de PAR1 qui pourrait être en cause dans le profil neurocognitif des femmes (Ross, Roeltgen et al. 2000).

Les femmes ayant un ST ont des difficultés pour reconnaître la peur; pour Weiss L.A. (Weiss, Purcell et al. 2007) il existe un locus en cause sur le chromosome X : EFHC2 (93 femmes ayant un ST), qui n'est pas retrouvé dans d'autres études (Zinn, Kushner et al. 2008) (97 femmes ayant un ST).

2.3 Mécanismes entraînant l'anomalie du nombre des chromosomes

2.3.1- Origine méiotique

Par définition, les anomalies de nombre affectent le nombre des chromosomes et non leur structure qui demeure normale. Elles peuvent être homogènes, présentes dans toutes les cellules de l'organisme, ou en mosaïque.

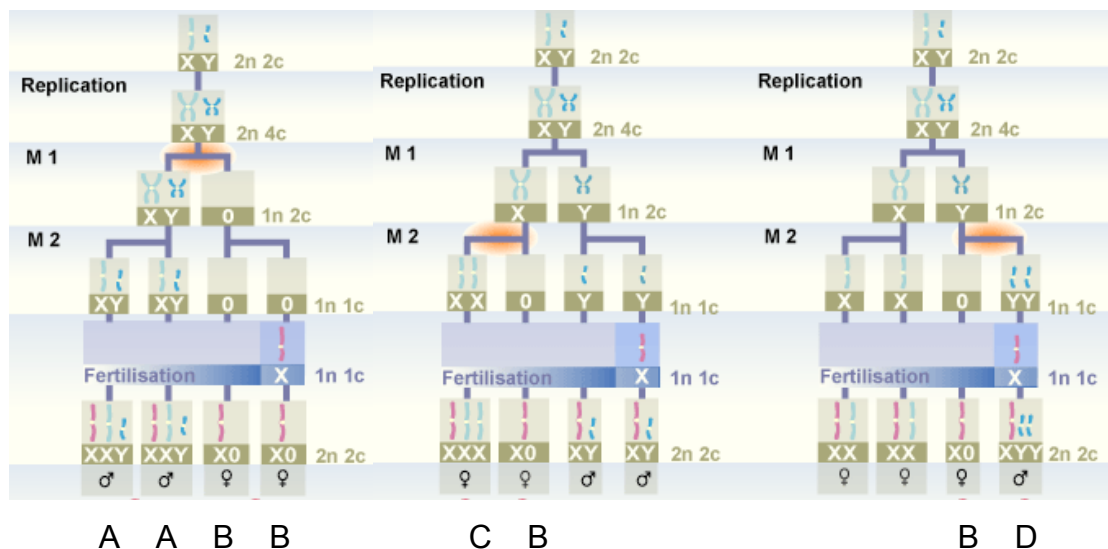
Lorsqu'elles sont homogènes, elles résultent le plus souvent d'une **non disjonction méiotique** et peuvent se traduire par une trisomie (présence d'un chromosome normal surnuméraire) ou une monosomie (perte d'un chromosome). On parle alors d'aneuploïdie.

Une non disjonction est définie par le fait que deux chromosomes (ou 2 chromatides d'un même chromosome) migrent vers le même pôle lors de l'anaphase et passent ensemble dans la même cellule fille, au lieu de migrer chacun dans une cellule fille. Cette non disjonction peut se produire lors d'une division méiotique maternelle ou paternelle. Elle peut concerner deux chromosomes homologues, lors de la première division méiotique, ou deux chromatides-sœurs lors de la deuxième division.

Figures 2 : Anomalies de nombre lors de la méiose (exemple de la spermatogénèse) à l'origine du syndrome de Turner. (<http://www.embryology.ch/francais/kchromaber/abweichende01.html>)

Figure de gauche : Non disjonction des chromosomes au cours de la première division de méiose (M1).

2 Figures de droite : Non disjonction des 2 chromatides du même chromosome au cours de la deuxième division de méiose (M2).



A : syndrome de Klinefelter, B : syndrome de Turner, C : syndrome triple X, D : syndrome XYY

2.3.2- Origine post-zygotique

Les anomalies de nombre en **mosaïque** sont particulièrement fréquentes dans le cas des chromosomes sexuels. Elles sont caractérisées par la présence d'au moins deux clones différents et résultent d'une **non disjonction post-zygotique**. Il s'agit d'anomalies survenues lors des premières divisions mitotiques de l'embryon.

2.4 Détecter le mosaïcisme

On sait que le taux de mosaïcisme dans le cadre du syndrome de Turner est souvent sous estimé et qu'il peut exister une variabilité de ce taux selon les tissus; l'analyse par FISH (Fluorescent In Situ Hybridation) avec des sondes ciblant les chromosome X (voire Y) permet de déceler des mosaïques non détectées avec les techniques classiques; plus récemment, des techniques de type analyse SNP array ont été utilisées pour évaluer le pourcentage de mosaïcisme (Conlin, Thiel et al. 2010).

Tableau 4 : Mise en évidence d'un mosaïcisme par FISH du chromosome X chez des femmes 45,X en cytogénétique conventionnelle.

	(Nazarenko, Timoshevsky et al. 1999)	(Wiktor and Van Dyke 2004)	(Wiktor and Van Dyke 2005)
Nombre de femmes 45,X non mosaïque en cytogénétique conventionnelle	21	19	22
Méthode	FISH et PCR DYZ	FISH	FISH
Tissu	Sang et épithélium buccal	Sang	Sang
Présence de chromosome Y	non	non	non
Nombre de femmes présentant un mosaïcisme par FISH du chromosome X	6/21 (29%)	7/19 (37%)	3/22 (14%)
Remarque	Le taux de cellules 46,XX va de 3% à 18% (moyenne à 7%)		

3- CHROMOSOME X ET EMPREINTE PARENTALE

A côté des variations de l'ADN lui-même, des variations épigénétiques pourraient être impliquées dans les variations phénotypiques des femmes ayant un ST; les mécanismes de l'empreinte parentale concernant le chromosome X sont évoqués.

Le mécanisme d'inactivation de l'X a été étudié, avec la particularité de l'inactivation de l'ensemble du chromosome X paternel dans le placenta de souris. La mise en place des marques d'empreinte lors de la gamétogénèse et leur flexibilité en fonction de l'environnement sont évoquées. Nous terminerons par un point sur les données récentes concernant les gènes soumis à empreinte parentale sur le chromosome X chez la souris (hors placenta), avant de faire un état des lieux des publications actuelles sur syndrome de Turner et origine parentale du chromosome X.

3.1 L'inactivation de l'X

Deux X pour les femelles, un seul pour les mâles : la balance est inégale. Certes, les mâles possèdent un chromosome Y. Mais il ne porte que très peu de gènes, alors que l'X en contient environ 1500. Qui plus est, les gènes du chromosome Y sont essentiellement impliqués dans un même phénomène, la différenciation des voies sexuelles mâles, alors que ceux du X interviennent dans des processus très divers.

Chez les mammifères, ce déséquilibre est compensé dès le tout début du développement de l'embryon femelle par l'inactivation (partielle) d'un des deux chromosomes X. L'inactivation du chromosome X représente le seul exemple connu d'extinction génique à l'échelle de (presque) tout un chromosome. Par son ampleur, c'est l'un des cas les plus frappants de régulation des gènes au cours du développement.

3.1.1- Corpuscule compact

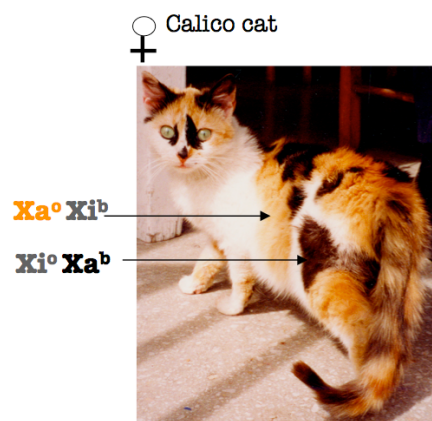
Le terme épigénétique, introduit dans les années quarante, fait de nos jours référence aux informations qui n'impliquent pas de modifications de la séquence d'ADN.

Historiquement, l'idée de l'inactivation est née de la conjonction de plusieurs résultats. En 1949, l'existence d'un corpuscule sombre et caractéristique dans les cellules femelles de mammifères est mise en évidence par Barr M. et Bertram E. Dix ans plus tard, il est découvert que ce corpuscule, appelé corpuscule de Barr, est l'un des deux chromosomes X de la femelle, sous forme compactée. Au même moment, on découvre que des souris femelles porteuses d'un seul chromosome X, au lieu des deux habituels,

sont des femelles viables et fertiles. Cela suggère qu'un seul chromosome X actif suffit au développement d'une femelle normale, contrairement aux autosomes, pour lesquels la perte d'un exemplaire est très souvent létale. Les premières preuves génétiques arrivent ensuite. L'étude de souris présentant des mutations sur des gènes du chromosome X qui régissent la couleur ou la texture du pelage fournit des résultats étonnants. Tandis que les mâles porteurs de ces mutations ont un pelage uniformément modifié de type mutant, les femelles porteuses des mêmes mutations présentent un pelage mosaïque composé de zones d'apparence normale (type sauvage) et de zones d'apparence modifiée (type mutant).

3.1.2- Mosaïque cellulaire

L'ensemble de ces observations permet en 1961 à Mary Lyon, d'émettre l'hypothèse de l'inactivation du chromosome X (Lyon 1961). Selon cette hypothèse, l'un des deux chromosomes X serait génétiquement inactivé durant l'embryogenèse et se condenserait pour former le corpuscule de Barr. Le chromosome inactivé étant choisi au hasard, l'embryon se trouve composé de deux populations de cellules, ayant chacune un chromosome X inactivé différent. L'hétérogénéité du pelage des animaux qui possèdent des mutations sur le chromosome X s'expliquerait donc par l'existence de zones constituées de cellules provenant de chacune des deux populations cellulaires, l'une ayant gardé actif le gène sauvage, l'autre le gène muté. Ajoutons que cet effet de l'inactivation aléatoire d'un des deux chromosomes X sur la couleur du pelage se retrouve chez d'autres mammifères, comme les chattes tricolores. Et que, plus généralement, les effets du mosaïcisme ne se limitent pas à la couleur du pelage.



3.1.3- Centre d'inactivation

Dans les années quatre-vingt, l'analyse de cellules femelles ayant subi des

remaniements chromosomiques mit en évidence une région du chromosome X qui contrôle la mise en place de l'inactivation (Heard, Avner et al. 1994). Ces remaniements étaient des translocations. Lorsqu'une certaine région du X était déplacée sur un chromosome non sexuel, ce dernier pouvait être inactivé. Inversement, le chromosome X privé de cette région restait toujours actif. D'où la conclusion que la région en question était critique pour la mise en place de l'inactivation. Elle fut donc baptisée «centre d'inactivation» (Xic, pour X Inactivation Center).

En 1981, la mise au point, chez la souris, du mode opératoire permettant de prélever et de mettre en culture des cellules souches embryonnaires (cellules ES) fournit un outil de choix (Evans and Kaufman 1981). Ces cellules indifférenciées sont pluripotentes. Elles sont prélevées dans des embryons de souris âgés de cinq jours, au stade blastocyste précoce. À ce stade, dans les souris ES femelles, les deux chromosomes X sont actifs. Mais, lorsque l'on provoque leur différenciation en changeant les conditions de culture, l'un des deux chromosomes X est inactivé, suivant un schéma général similaire à ce qui se passe dans l'embryon au-delà du cinquième jour. En particulier, l'inactivation y est aléatoire : dans certaines cellules, c'est le X paternel qui est inactivé, dans d'autres, le X maternel.

3.1.4- Comptage approprié

Dès 1985, Rastan S. et Robertson E. montrèrent, en utilisant différentes lignées de cellules souches dites EK, semblables aux cellules ES, qu'il n'y avait plus aucun processus d'inactivation chez celles ayant spontanément perdu le centre d'inactivation d'un de leurs deux chromosomes X (Rastan and Robertson 1985). Tout se passait comme si la cellule, n'ayant plus qu'un seul centre d'inactivation au lieu de deux, ne considérait plus comme nécessaire d'initier un quelconque processus d'inactivation. Le centre d'inactivation semblait donc responsable non seulement de l'initiation de l'inactivation en elle-même, mais également du «comptage» du nombre de chromosomes X présents dans la cellule. Une étape de comptage indispensable à la bonne régulation du processus, puisqu'elle permet par exemple d'éviter que l'unique chromosome X des mâles soit inactivé.

3.1.5- ARN non codants

En 1991, l'équipe de Willard H. découvrit que le centre d'inactivation humain contenait un gène très particulier, qui n'était actif que sur le chromosome X inactivé (Brown, Lafreniere et al. 1991). Ce résultat, pour le moins paradoxal, poussa Willard H. à proposer

l'hypothèse suivante : le produit de ce gène était à l'origine de l'inactivation de tout le reste du chromosome. Ce gène fut nommé Xist pour X Inactive Specific Transcript. Peu de temps après, son homologue était découvert chez la souris.

Le point le plus intéressant fut que le produit de ce gène Xist se révéla être un ARN non codant. De plus, des expériences de FISH ont montré que l'ARN Xist reste dans le noyau de la cellule, plus particulièrement autour du chromosome X inactif, qu'il recouvre dans sa quasi-totalité. L'ARN Xist est en effet impliqué dans l'extinction transcriptionnelle du chromosome X.

Dans les années quatre-vingt-dix, de nombreuses études ont en effet montré que le gène Xist était l'élément clé indispensable à la mise en place de l'inactivation (Brockdorff 2002). D'une part, plusieurs équipes ont effectué des délétions de ce gène au niveau d'un des deux chromosomes X de cellules femelles. Elles ont observé que, systématiquement, le chromosome X ainsi délété ne pouvait plus être inactivé. D'autre part, d'autres groupes ont introduit, par transgénèse, différentes parties du centre d'inactivation au sein de chromosomes non sexuels. Ils ont alors observé que, lorsque le gène Xist fait partie de la séquence transférée et qu'il est transcrit, l'ARN qu'il produit recouvre l'autosome qui le porte comme s'il s'agissait d'un chromosome X, ce qui aboutit à l'inactivation des gènes de cet autosome. C'est également le cas lorsque Xist est transféré seul et qu'il est transcrit. L'ensemble de ces études démontrait donc que l'ARN Xist était non seulement nécessaire, mais même suffisant, à la mise en place de l'inactivation (Wutz and Jaenisch 2000). Toutefois, la fenêtre de temps durant laquelle il peut agir est limitée. Wutz A. et Jaenisch R., ont en effet observé, en 2000, que, si l'on retarde l'expression du gène Xist, l'ARN recouvre toujours le chromosome dont il est issu mais n'a plus aucun effet sur la transcription de ses gènes. Inversement, une fois l'inactivation du chromosome établie, l'élimination de Xist n'a plus aucun effet sur l'extinction des gènes. Xist n'est donc nécessaire qu'à l'initiation de l'inactivation et non à son maintien.

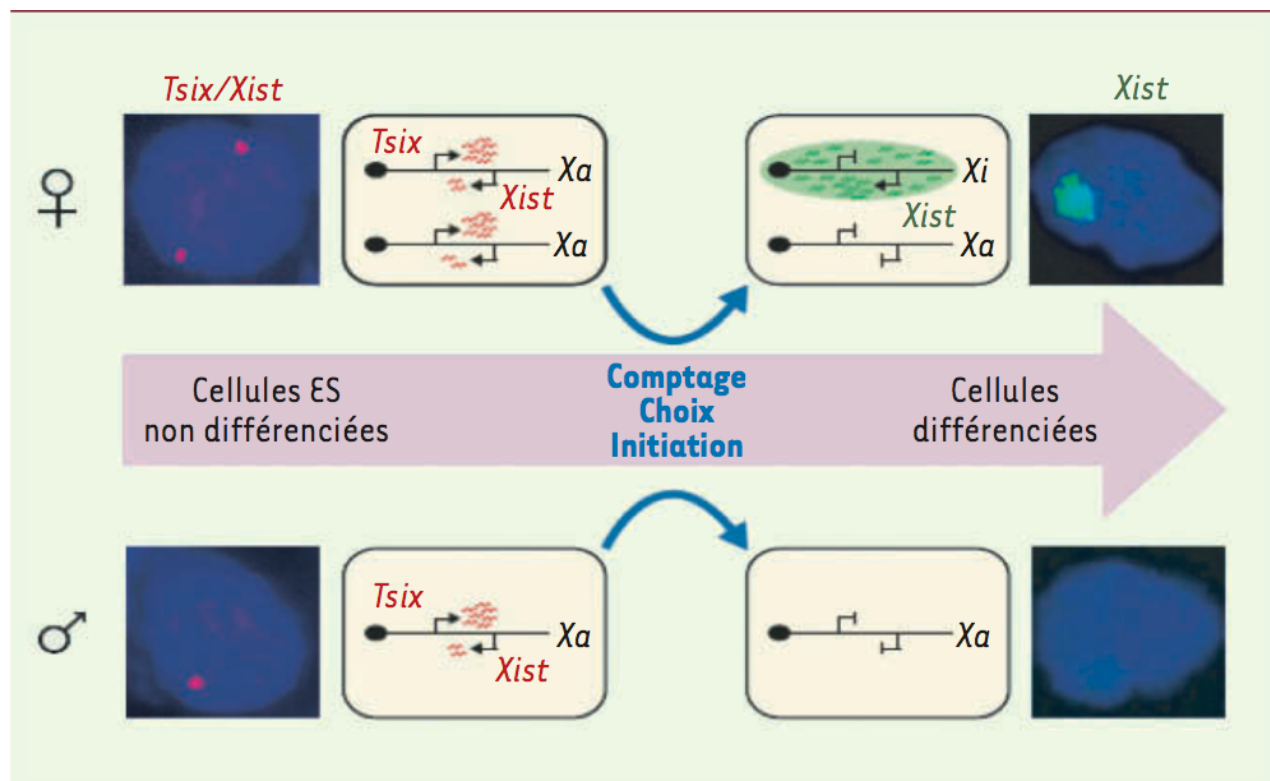
Le gène Tsix produit un ARN non traduit à partir du brin complémentaire au gène Xist : c'est un gène antisens à Xist. Tsix est un inhibiteur de Xist.

Chez la souris, avant l'inactivation, les deux chromosomes X produisent l'ARN Xist et Tsix en petite quantité. Durant le processus d'inactivation, le futur Xa arrête la transcription de Xist et augmente la transcription de Tsix; le chromosome X inactif augmente la transcription de Xist et arrête celle de Tsix.

La régulation des gènes contrôlant Xist dépend de Tsix (et inversement) mais il y a aussi d'autres facteurs qui régulent l'expression de Xist et dont l'identification ne fait que commencer (Navarro and Avner 2010) (Navarro, Chantalat et al. 2009) (Ciaudo, Bourdet et al. 2006) (Navarro, Page et al. 2006) chez la souris.

Figure 3 : d'après (Vigneau and Clerc 2006) : L'inactivation du chromosome X met en jeu les ARN non codants Xist et Tsix.

L'expression de Xist et Tsix est ici visualisée par RNA-FISH dans les cellules souches ES murines. Dans les cellules indifférenciées aussi bien mâles que femelles, les chromosomes X sont actifs (Xa), Tsix est fortement exprimé et Xist est très faiblement exprimé. En cours de différenciation, l'expression de Tsix est perdue et une forte expression de Xist est observée sur l'un des deux chromosomes X dans les cellules femelles.



3.1.6- Marques épigénétiques

Si euchromatine et hétérochromatine diffèrent par leur conformation, elles diffèrent également par la constitution de leurs nucléosomes. En effet, les histones constituant les nucléosomes peuvent subir des modifications. Ces modifications sont souvent caractéristiques de l'une ou de l'autre forme de la chromatine, et elles seraient

impliquées dans la régulation transcriptionnelle des gènes associés.

Or, les histones du chromosome X inactivé présentent ce genre de modifications, qui le différencient du X actif (Heard 2004). Certaines sont communes à toutes les régions hétérochromatiques du génome, dont l'X inactif fait partie, tandis que d'autres lui sont spécifiques. Par ailleurs, les gènes de l'X inactif sont la cible d'un autre type de modification épigénétique bien connu : la fixation de groupements méthyles sur certaines bases de l'ADN. Cette modification est courante chez les gènes «éteints», qu'ils soient situés sur le chromosome X ou sur un autre chromosome. Comme il a été démontré, dans des cellules ES, que ces modifications épigénétiques qui affectent les histones et l'ADN accompagnent l'extinction des gènes, cela laisse supposer qu'elles jouent un rôle dans la mise en place de l'inactivation elle-même. Et comme toutes ont lieu après le recouvrement du chromosome X par Xist, elles seraient provoquées par ce dernier.

3.1.7- D'un mammifère à l'autre

Ce phénomène d'inactivation d'un seul des deux chromosomes X diffère d'une espèce de mammifère à l'autre. Ainsi, chez l'homme, l'inactivation est aléatoire tant dans l'embryon que dans les tissus extra-embryonnaires comme le placenta (Zeng and Yankowitz 2003). Cependant l'allèle paternel concernant le récepteur aux androgènes semble être plus méthylé dans les cellules trophoblastiques chez les humains (Goto, Wright et al. 1997). Une publication récente (Moreira de Mello, de Araujo et al. 2010) étudiant l'expression de 22 gènes du chromosome X dans le placenta humain a retrouvé une inactivation aléatoire du chromosome X, cette publication fait un état de la littérature sur la question et retrouve 5 publications en faveur d'une inactivation préférentielle de Xp dans le placenta humain et 5 publications en faveur d'une inactivation aléatoire (Migeon and Do 1978) (Ropers, Wolff et al. 1978) (Harrison and Warburton 1986) (Harrison 1989) (Migeon and Do 1979) (Mohandas, Passage et al. 1989) (Zeng and Yankowitz 2003) (Goto, Wright et al. 1997) (Looijenga, Gillis et al. 1999) (Willemsen, Bontekoe et al. 2002). Nous ne sommes qu'au début de la connaissance de l'importance du phénomène d'empreinte dans le placenta humain (Frost and Moore 2010). En revanche, chez les marsupiaux, qui sont proches des mammifères ancestraux, l'inactivation est soumise à une empreinte parentale dans tous les tissus. En l'occurrence, c'est l'X d'origine paternelle qui est systématiquement inactivé. Chez les rongeurs et les bovins, la situation est intermédiaire. L'inactivation est soumise à une empreinte dans les tissus extra-embryonnaires, avec inactivation exclusive de l'X paternel, mais elle est aléatoire dans

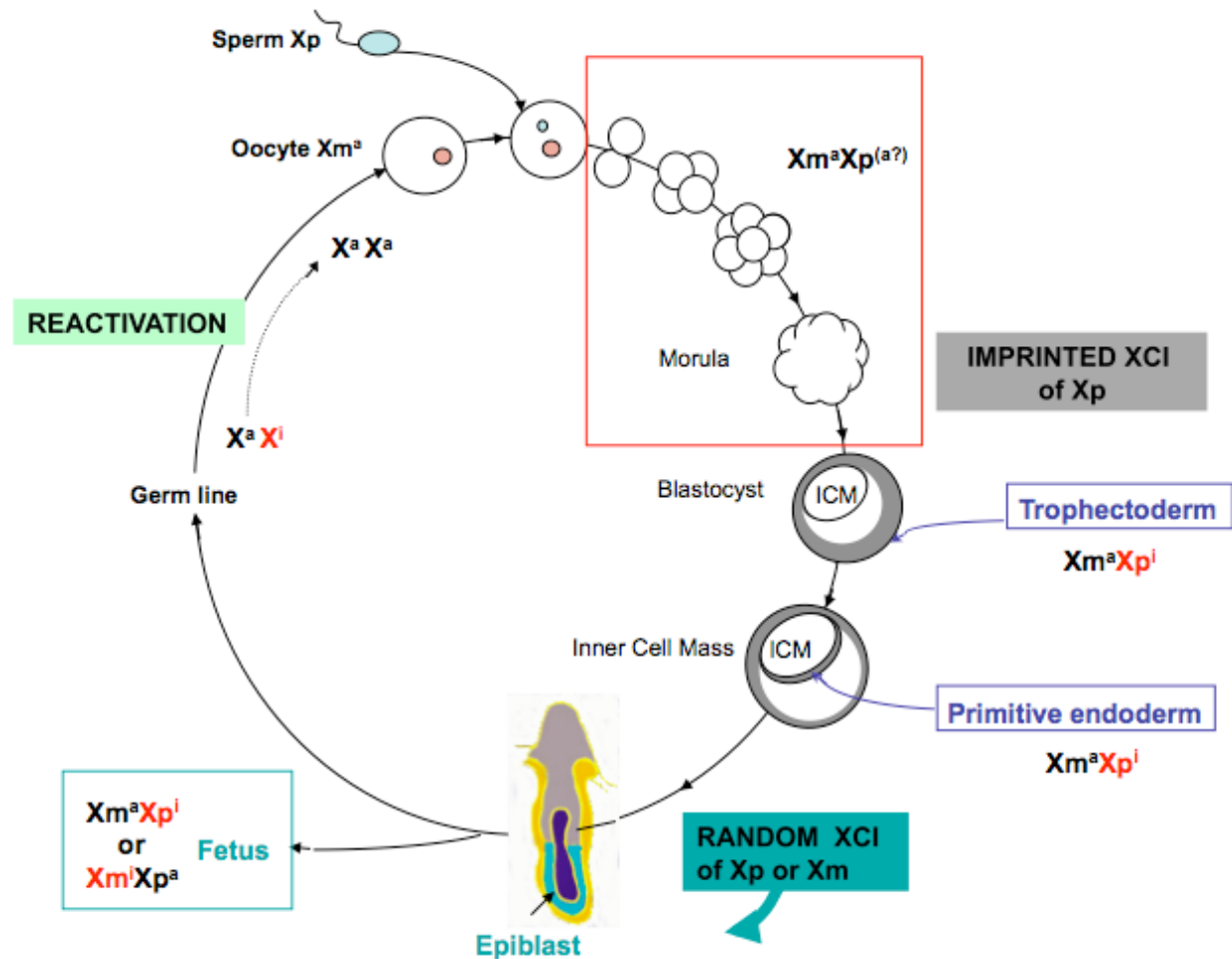
les cellules de l'embryon lui-même. Il a de ce fait été suggéré que l'inactivation soumise à une empreinte parentale serait la forme ancestrale du processus, tandis que l'inactivation aléatoire en serait la forme évoluée. Cependant, cette hypothèse, très attractive, d'une inactivation soumise à empreinte «ancêtre» de l'inactivation aléatoire mérite d'être discutée. Car le mécanisme de l'inactivation soumise à empreinte semble très différent chez les marsupiaux et dans les tissus extra-embryonnaires des rongeurs. En effet, aucun homologue du gène Xist n'a pu être identifié chez les marsupiaux. En outre, certaines marques épigénétiques n'existent pas chez ces animaux, alors qu'elles sont cruciales chez les rongeurs, tant pour l'inactivation aléatoire que pour celle soumise à empreinte. Une seconde hypothèse peut alors être envisagée, celle que l'inactivation soumise à empreinte aurait pu apparaître plusieurs fois au cours de l'évolution, selon les différentes pressions de sélections, spécifiques à chaque espèce de mammifères.

Quoi qu'il en soit, lorsque empreinte il y a, pourquoi est-ce toujours l'X paternel qui est inactivé ? À la fin 2003, l'équipe de Lee J. a proposé que le chromosome X paternel pourrait arriver déjà inactivé au moment de la fécondation (Huynh and Lee 2003). En effet, les chromosomes X et Y sont inactifs dans les cellules précurseurs des spermatozoïdes. On peut donc supposer que le chromosome X reste inactif dans les spermatozoïdes et est transmis sous cette forme à l'embryon. Toutefois, cette hypothèse reste à prouver, et de nombreux contre-arguments existent. D'une part, si le chromosome X est bien inactif durant la plus grande partie de la spermatogenèse, il est réactivé au cours des dernières étapes produisant les spermatozoïdes (Khalil, Boyar et al. 2004). D'autre part, il semble bien que les deux chromosomes X soient actifs chez le tout jeune embryon de deux cellules. Autrement dit, l'inactivation du X a lieu plus tard.

Quand ? Il est maintenant clair que l'inactivation apparaît pour la première fois au stade quatre/huit cellules dans l'embryon. L'équipe de Heard E. et celle de Lee J. ont en effet démontré que les cellules de ce tout jeune embryon de deux jours ont déjà un de leurs chromosomes X recouvert par Xist et qu'il commence à s'inactiver. Cet X est toujours d'origine paternelle et reste éteint jusqu'au stade blastocyste précoce.

L'équipe de Heard E. et celle de Brockdorff N. (Okamoto, Otte et al. 2004) ont montré que tandis qu'il reste éteint dans les tissus extra-embryonnaires, le chromosome X paternel inactivé est réactivé 4,5 jours après fécondation dans le bouton embryonnaire. Un second processus d'inactivation, aléatoire cette fois, se met alors en place dans ces cellules.

Schéma 1: L'inactivation de l'X chez la souris d'après Edith Heard (Developmental Epigenetics Group CNRS UMR 218, Curie Institute, Paris, France)



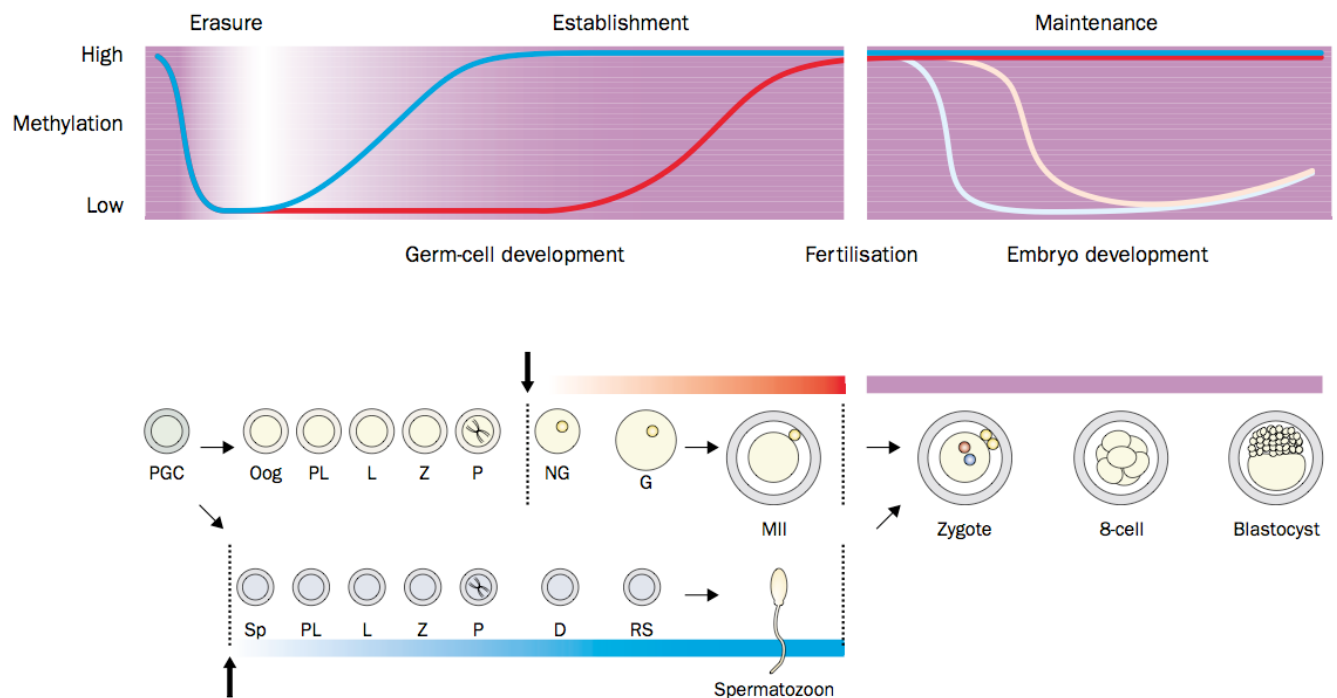
3.2 Empreinte parentale et gamétogénèse

L'acquisition des marques d'empreinte a lieu lors de la différenciation gonadique. Dans les cellules germinales primordiales d'un nouvel organisme, les marques d'empreinte sont effacées à un stade précoce et seront réapposées à un stade plus tardif (méthylation de novo dans les cellules germinales mâles ou femelles) du développement en fonction de leur origine maternelle ou paternelle.

Les gènes non soumis à empreinte suivent le même profil que les gènes soumis à empreinte pendant la gamétogénèse. Cependant, les gènes non soumis à empreinte, après la fécondation, subissent une vague de déméthylation, suivie, avant l'implantation, d'une reméthylation des gènes au stade blastocyste. Cette déméthylation massive aurait pour rôle d'effacer toute régulation provenant des cellules germinales parentales pour permettre un nouveau profil d'expression génique caractéristique du zygote.

Il est frappant de constater que les méthylations spécifiques des gènes soumis à empreinte, établies pendant la gamétogenèse, sont complètement protégées de cette déméthylation, sans que l'on comprenne encore le mécanisme de cette protection (Gabory and Dandolo 2005) (Reik, Dean et al. 2001).

Schéma 2 : D'après (Gosden, Trasler et al. 2003) : Cycle de l'empreinte parentale



Programmed demethylation and methylation of genomes of developing oocytes, spermatozoa, and embryos

PGC=primordial germ cell. Oog=oogonia. Sp=spermatogonia. PL=preleptotene. L=leptotene. Z=zygotene. P=pachytene. D=diplotene. NG=non-growing oocyte. G=growing oocyte. RS=round spermatid. MII=metaphase II oocyte. Top: Methylation status of maternally (red) and paternally (blue) imprinted genes. Methylation of non-imprinted genes follows same profile during germ-cell development. Methylation of non-imprinted maternal (pale red) and paternal (pale blue) genes declines after fertilisation. Bottom: Establishment of methylation imprint in germ cells during oogenesis (red shading) and spermatogenesis (blue shading). Maternal and paternal methylation imprints are maintained in the preimplantation embryo (purple shading). Bold arrows represent timing of birth in relation to germ-cell development. Model based predominantly on data from mice. Adapted from reference 18.

3.3 Particularités du chromosome X

3.3.1- Gènes échappant à l'inactivation

Au delà du développement précoce la vision traditionnelle de l'expression des gènes portés par le chromosome X subdivise le chromosome en des régions pseudo-autosomiques (PAR1 et PAR2) et des régions soumises à l'inactivation aléatoire de l'X. Les régions pseudo-autosomiques, homologues sur les chromosomes X et Y, portent un petit nombre de gènes exprimés de façon biallélique avec des effets de dosage génique

en cas d'haplo-insuffisance. En dehors de ces régions pseudo-autosomiques, on considèrerait habituellement que l'inactivation aléatoire d'un des deux X entraînait l'expression aléatoire des copies maternelle ou paternelle dans 50% des cellules d'un individu XX (Lyon 1961).

Une analyse extensive du profil d'inactivation de gènes portés par l'X dans des lignées de fibroblastes de femmes a revisité le concept d'inactivation de l'X (Carrel and Willard 2005). Ces études ont confirmé l'expression strictement monoallélique d'environ 75% des gènes mais révélé que 15% des gènes échappaient à l'inactivation (et s'expriment de façon biallélique) et que 10% avaient un profil d'expression variable selon les individus. Ces gènes qui échappent à l'inactivation sont localisés préférentiellement dans les régions S5 et S4 du chromosome X (Carrel and Willard 2005). Ces données amènent à revisiter les concepts de la pathogénie du syndrome de Turner puisque la perte d'une copie pourrait entraîner une insuffisance quantitative de l'expression de ces gènes exprimés de façon biallélique chez les individus XX. Récemment des différences dans la séquence d'ADN génomique ont été incriminées dans l'échappement ou non à l'inactivation de certains gènes du chromosome X (Wang, Willard et al. 2006).

3.3.2- Biais d'inactivation de l'X

Sur 1 005 femmes phénotypiquement normales, seule une très faible proportion ont un biais d'inactivation de l'X en période néonatale (légère augmentation avec l'âge) (Amos-Landgraf, Cottle et al. 2006).

Par contre, si l'embryon a reçu un allèle normal et un allèle mutant de ses parents, dans le cas où la mutation désavantage les cellules, ces cellules peuvent être éliminées et donc le résultat de l'inactivation est biaisé (inactivation préférentielle d'un chromosome X paternel ou maternel) (Wolff, Schwartz et al. 2000).

3.3.3- Unidisomie du chromosome X

En cas de chromosome X en anneau il y a perte ou non expression de Xist entraînant une disomie fonctionnelle du segment de l'X correspondant à l'anneau.

Tableau 5 : Exemples de disomies uniparentales du chromosome X :

Publications	Caryotype	Phénotype
(Quan, Janas et al. 1997)	46,XX	1 cas de disomie uniparentale du chromosome X d'origine maternelle avec dystrophie musculaire de Duchenne
(Schinzel, Robinson et al. 1993)	Mosaïque 45,X/46,XX avec 90%-100% de cellules 46,XX	1 cas de disomie uniparentale du chromosome X d'origine paternelle avec petite taille et insuffisance gonadique

3.3.4- Empreinte et chromosome X

Chez la souris :

A côté de l'inactivation du chromosome X paternel dans les annexes de l'embryon de souris qui peut être considéré comme un phénomène d'empreinte parentale concernant un chromosome entier, des groupes de gènes sur le chromosome X de la souris elle-même sont soumis à empreinte, indépendamment de l'inactivation de l'X.

L'expression des gènes du chromosome X dans le cerveau a été étudiée dans des modèles murins de monosomie X (Davies, Isles et al. 2005) (Raefski and O'Neill 2005). Ces expériences de microarray ont permis de montrer que l'expression de *Xlr3b* et de ses homologues *Xlr4b* et *Xlr4c* se faisait préférentiellement à partir de l'X maternel (expression relative de l'ordre de 5 à 6 fois), indépendamment de l'inactivation aléatoire de l'X (Davies, Isles et al. 2005) (Raefski and O'Neill 2005). De plus, l'origine parentale du X était associée à une différence phénotypique dans un test d'apprentissage dans un labyrinthe et les souris 39,X^mO faisaient plus d'erreurs que les souris 39,X^pO (Davies, Isles et al. 2005). Le gène *Xlr3b* fait partie de la famille de gènes *Xlr-Xmr*, qui codent pour des protéines associées à la chromatine et sont fortement exprimées dans les gonades. Ces données confirment l'existence de gènes exprimés de façon différentielle selon l'origine parentale sur le chromosome X, en tout cas dans le cerveau (et dans différents organes) de souris en développement, ce qui était jusqu'ici un sujet controversé.

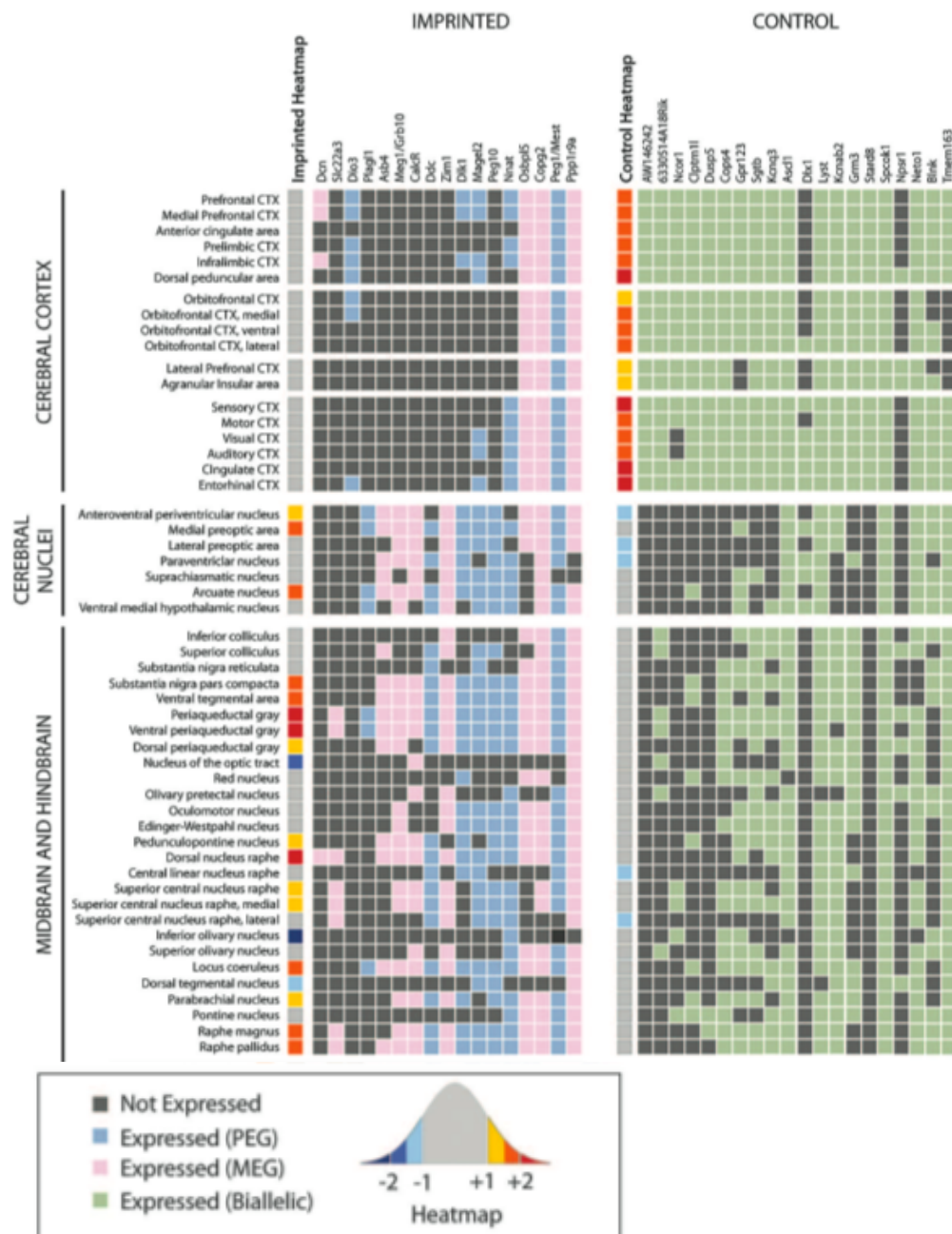
Suite à ces articles mettant en évidence, entre les souris 39,X^mO et les souris 39,X^pO, une expression différente des gènes de la famille *xlr* (*X linked lymphocyte regulated*), d'autres données sont apparues. Certaines contradictoires : Lopes A.L. (Lopes, Burgoyne et al. 2010), quant à elle, n'a pas mis en évidence, chez les souris adultes non

mosaïques 39,X^mO versus 39,X^pO, de différence d'expression des gènes dans différents tissus (cerveau, foie, rein, muscle) par microarray et PCR quantitative. Cependant, il n'est pas précisé si les gènes de la famille *xlr* ont été étudiés plus spécifiquement sachant que les puces de microarray utilisées dans cet article (Illumina) sont différentes de celles utilisées dans les 2 articles concernant *xlr* (Affymetrix). On note que leurs résultats en microarray versus PCR quantitative n'étaient pas toujours superposables.

Par ailleurs, il a été mis en évidence par microarray des gènes soumis à empreinte sur le chromosome X chez la souris dans les blastocystes au stade pré-implantatoire (Kobayashi, Isotani et al. 2006). En effet, parmi les gènes liés au chromosome X dans les blastocystes femelles, *Rhox5/Pem* était exprimé de façon prédominante à partir de l'allèle paternel.

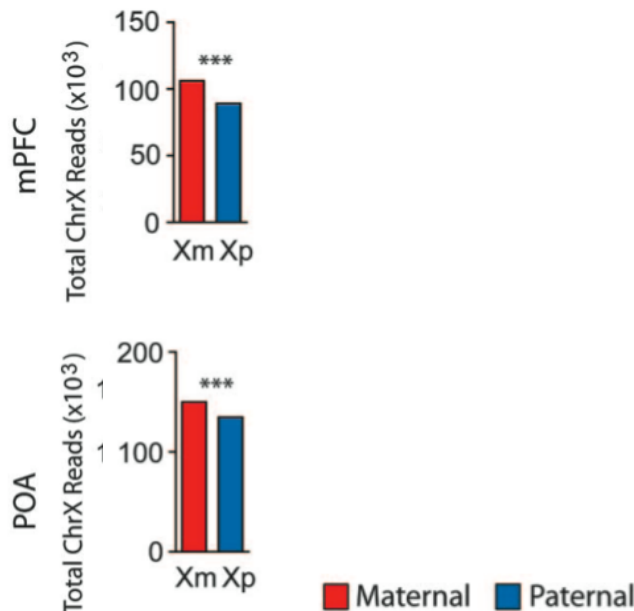
De même, en utilisant une approche génome entier, l'expression des gènes en fonction de leur origine parentale a été étudiée chez des souris adultes. Ainsi, il a été observé une expression des gènes préférentiellement d'origine maternelle dans le cerveau en développement et une expression des gènes préférentiellement d'origine paternelle dans le cerveau de souris adulte. Il y a donc des biais d'expression parentale dans la régulation épigénétique du cerveau (Gregg, Zhang et al. 2010).

Figure 4 : Une carte de l'expression des gènes soumis à empreinte dans le système nerveux central identifie des points chauds et froids. La présence (carrés colorés) versus l'absence (carrés gris) de l'expression de gènes soumis à empreinte a été déterminée dans différentes régions du cerveau. Les gènes contrôles d'expression biallélique ont été sélectionnés de façon aléatoire sont représentés par des carrés verts. La carte 'de chaleur' a été attribuée à chaque région du cerveau selon le nombre de déviations standards de la moyenne pour le nombre de gènes soumis à empreinte exprimés (<-2, <-1,5, -1, +1, +1,5, +2).



La même équipe a montré que certains de ces gènes soumis à empreinte parentale étaient exprimés à partir du chromosome X (Gregg, Zhang et al. 2010).

Figure 5 : Expression préférentielle de Xm dans la zone préoptique et le cortex préfrontal médian



De même, une autre étude récente montre que dans le cerveau de souris XX en période néonatale, il y aurait un biais paternel d'inactivation du chromosome X avec une série de gènes sur le chromosome X s'exprimant préférentiellement à partir du chromosome X d'origine maternelle (Wang, Soloway et al. 2010). Ces données vont donc contre la règle d'inactivation aléatoire du chromosome X dans l'embryon de souris avec un possible phénomène d'empreinte parentale dans le cerveau de souris.

Cependant, le phénotype des souris XO est très modéré par rapport à celui des femmes ayant un ST : souris fertiles ne présentant pas d'anomalies phénotypiques majeures.

Chez les humains : Urbach A. (Urbach and Benvenisty 2009) a comparé l'expression des cellules souches embryonnaires humaines XO versus les cellules XX. Parmi les gènes sur le chromosome X n'étant pas ou plus exprimés dans les cellules XO *ARSE*, *STS*, *TBL1* étaient cités. Par ailleurs, l'étude du niveau d'expression globale entre les cellules différenciées 45,XO et 46,XX dans différents organes n'était pas différente, alors que l'expression des cellules XO était très diminuée dans le placenta, ce qui pourrait expliquer pourquoi 99% des grossesses XO se soldent par une fausse couche précoce.

4- SYNDROME DE TURNER ET ORIGINE PARENTALE DU CHROMOSOME X

Les données publiées sur origine parentale et variabilité phénotypique sont résumées dans le [tableau 6](#).

Skuse D.H. et al (Skuse, James et al. 1997) ont analysé la compétence sociale chez 80 patientes, en utilisant un instrument spécifique à leur étude. Le score de "dysfonction sociale" présenté est 2.1 fois plus élevé chez les patientes X^{mat} que chez les patientes X^{pat} . Par ailleurs, il est noté une augmentation significative de difficultés d'interaction sociale, de besoins d'aide éducative ou de problèmes scolaires chez les patientes X^{mat} . Cette publication, à l'origine de controverses, n'a jamais été répliquée et des résultats contradictoires non publiés ont été cités (Ross, Roeltgen et al. 2006).

Il a été suggéré une relation entre le chromosome X^{pat} et les facultés arithmétiques (WISC-R : Wechsler Intelligence Scale for children-Revised) mais seulement 12 femmes étaient concernées (Ergur, Ocal et al. 2008).

Des différences de taille des amygdales temporales et des régions hippocampiques entre les patientes ayant un syndrome de Turner avec un X intact d'origine maternelle (X^{mat}) et les patientes avec un X intact d'origine paternelle (X^{pat}) ont été rapportées dans certaines études (Kesler, Blasey et al. 2003; Cutter, Daly et al. 2005) (Cutter, Daly et al. 2006) mais pas d'autres (Good, Lawrence et al. 2003; Kesler, Garrett et al. 2004).

L'influence de l'origine parentale de l'X intact sur les composantes somatiques du syndrome ont été peu étudiées (Jacobs, Betts et al. 1990). Dans l'étude de Chu C.E. (Chu, Donaldson et al. 1994), portant sur 63 patientes, la corrélation entre taille parentale et taille de l'enfant dépend de l'origine parentale de l'X : chez les patientes X^{pat} , il n'y avait pas de corrélation enfant/parents; chez les patientes X^{mat} , il y avait une corrélation significative avec la taille maternelle ($p < 0.01$) mais pas avec la taille paternelle. Plus récemment, Hamelin C.E. et al (Hamelin, Anglin et al. 2006) ont analysé la réponse à l'hormone de croissance, la taille et la surdité chez 54 patientes. Une corrélation entre tailles parentales et taille des patientes est retrouvée chez les patientes X^{mat} , mais pas X^{pat} . Surtout, les patientes X^{mat} ont un gain de taille adulte environ 3 cm supérieur à celui des patientes X^{pat} , ce qui n'a pas été retrouvé pour d'autres (Ko, Kim et al. 2010). La prévalence de la surdité neurosensorielle est plus élevée chez les patientes X^{pat} que X^{mat} .

Concernant les mensurations de naissance, il n'a pas été retrouvé de différence de taille

(n=28) ni de poids de naissance (n=49) en fonction de l'origine parentale du chromosome X dans l'étude d'Hamelin C.E. (chez les patientes ayant tout type de caryotype et chez celles ayant une monosomie 45,X uniquement) (Hamelin, Anglin et al. 2006) ni dans celle de Kochi C. (Kochi, Longui et al. 2007). Il n'a pas été retrouvé de différence de poids de naissance ni d'âge gestationnel dans l'étude de KO J.M. (Ko, Kim et al.) ni celle de Sagi L. (Sagi, Zuckerman-Levin et al. 2007).

Une étude regroupant 89 patientes ayant un syndrome de Turner a mis en évidence une plus grande fréquence d'adiposité viscérale et une augmentation du LDL-cholestérol dans le groupe de patientes X^{mat} par rapport au groupe X^{pat} (Van, Bakalov et al. 2006). Ces résultats sont discordants par rapport à l'étude de Hochberg et al (Sagi, Zuckerman-Levin et al. 2007) qui retrouve des taux de cholestérol total et de LDL-cholestérol plus élevés dans le groupe X^{pat} . Dans cette étude regroupant 83 patientes, le groupe X^{mat} semble avoir plus d'anomalies rénales et le groupe X^{pat} plus de problèmes ophtalmologiques.

Une étude récente (Bondy, Matura et al. 2007), n'a pas retrouvé de différence en ce qui concerne les anomalies cardio-vasculaires, rénales, de cou palmé chez des femmes ayant un syndrome de Turner et pas de différence de taille finale chez 79 patientes entre les groupes X^{pat} et X^{mat} . Cependant, les femmes ayant un caryotype mosaïque sont mélangées à celles qui ont une monosomie (49% de patientes ayant un caryotype 45,X soit 91 femmes); les relations origine parentale du chromosome X-phénotype sont donc susceptibles d'être biaisées. De plus, la taille à 16 ans est considérée comme la taille définitive, or la vitesse de croissance n'est pas prise en compte ni l'âge osseux chez ces femmes et nous avons pas d'information sur le stade pubertaire; donc on ne peut pas affirmer qu'il s'agisse de la taille définitive.

On notera que, pour la plupart des études, les femmes ayant un ST avec des caryotypes différents sont mélangés; dans ce cas, les corrélations génotype/phénotype sont moins fiables, c'est la raison pour laquelle nous avons effectué une étude sur une large population de femmes ayant un ST avec une monosomie 45,X.

Tableau 6 : Données publiées sur origine parentale et variabilité phénotypique du ST

Publications	Caryotype	Nombre de patientes	Variables phénotypiques étudiées (0 : pas de différence de phénotype entre le groupe Xp et Xm ; 1 : différence)											Remarques	
			Taille	IMC	Cardiologie	Cou palmé	Rein	LDL cholestérol et cholestérol total	Ophtalmo - logie	Surdité neu - rosensorielle	Adaptation sociale	Fonction arythm�ti - que	Imagerie cérébrale, anatomie cérébrale		
{Bondy, 2007}	Tous	183	0		0 (n=178)	0 (n=183)	0 (n=183)							Taille adulte corrélée à la taille maternelle dans les groupes Xp et Xm (sujets non traités par GH)	
{Chu, 1994}	Tous	63	1 (n=79)											Taille des patientes Xm corrélée à la taille maternelle	
{Hamelin, 2006}	Tous sauf mosa�iques compre - nant 46,XX et sauf Y	54	1 (36)							1 (n=50)				Taille des patientes Xm corrélée à la taille maternelle et la taille cible génétique Patientes Xm : meilleure gain de taille sous GH (pour 45,X et pour tous les caryo - types) (n=35) Pas de différence de taille de naissance ni de poids de naissance	
{Ko, 2010}	Caryotypes non mosa�iques	33	1	0	0		0		0	0				Taille des patientes 45,Xm corrélée à la taille maternelle Pas d'effet sur le gain de taille sous GH Pas de différence de poids de naissance ni d'âge gestationnel	
{Kochi, 2007}	45,X uniquement	37	1											Taille des patientes 45,Xm corrélée à la taille maternelle et à la taille cible g�n� - tique Pas de différence de taille de naissance ni de poids de naissance	
{Sagi, 2007}	45,X et 46Xi(Xq)	83	0		1 (n=80)		1 (n=80)	1 (n=78)	1 (n=80)					Pas de différence de taille ni d'effet diff�rent de la GH Pas de diffé - rence de poids de naissance ni d'âge gestationnel	âges entre 0,4 et 39,5 ans, étude multicentrique, 4 microsatellites étudiés
{Van, 2006}	Tous	89	0 (n=80)					1						Différence entre Xp et Xm aussi pour les triglycérides et l'adiposité abdominale, viscérale	
{Skuse, 1997}	Tous	80									1			Score de «dysfonction sociale» créé pour l'étude	
{Kesler, 2003}	Caryotypes non mosa�iques	30											1	Gyrus temporal supérieur	âge moyen :14.73+-6.41 (7.56 -33.30)
{Kesler, 2004}	Caryotypes non mosa�iques	30											0	Amygdale et hippocampe	
{Cutter, 2006}	45,X uniquement	27											1	Volume de matière grise dans le noyau caudé et le thalamus, matière blanche dans les lobes temporaux, volume du complexe amygdale-hippocampe	
{Good, 2003}	Caryotypes non mosa�iques	21											0	Cortex orbito-frontal	
{Ergur, 2008}	45,X uniquement	12										1			

Remarques : si, pour une variable étudiée, le nombre de personnes diffère du nombre de personnes total incluses dans l'étude, il est noté (n=) dans la cellule correspondant

B- OBJECTIFS DU TRAVAIL

L'objectif de ce travail est de mieux comprendre certains aspects du syndrome de Turner. En effet, une meilleure compréhension de la variabilité des signes cliniques dans l'enfance et des conditions de la transition à l'adolescence permet une meilleure prise en charge des patiente, plus adaptée à leurs besoins individuels. Nous avons donc, par une approche génétique, voulu comprendre les mécanismes qui sous-tendent l'hétérogénéité du ST, et par une approche plus clinique, et nous avons analysé les facteurs qui expliquent le suivi à la période de transition.

C- RESULTATS

1- Article 1 : *Determinants of medical care for young women with Turner syndrome*

1.1 Introduction

Un suivi médical régulier est nécessaire tout au long de la vie des femmes ayant un ST. En effet, le risque de mortalité est 3 fois supérieur à celui de la population générale. Les complications médicales apparaissent de façon insidieuse (hypothyroïdie, surdité, ...), peuvent être mortelles (pathologies cardio-vasculaires), altèrent la qualité de vie (surdité) et sont traitables pour la plupart d'entre elles.

Ce suivi est cependant contraignant pour les patientes, et, alors qu'il est régulier dans l'enfance et l'adolescence (car le traitement par hormone de croissance, lorsqu'il est instauré, nécessite une consultation médicale tous les 3 mois), il devient plus aléatoire à la fin de l'adolescence. En effet, à cette période, le traitement par GH est souvent arrêté et les jeunes femmes ont souvent un suivi moins régulier, d'autant plus que le changement de lieu de prise en charge et de médecin représente parfois une difficulté supplémentaire. Il n'est pas facile pour le médecin assurant le suivi pédiatrique de s'assurer que le suivi spécialisé aura lieu en médecine adulte et le nombre de 'perdus de vue' à cette période semble conséquent.

Les médecins spécialisés dans le syndrome de Turner ont effectué des recommandations internationales concernant les examens à effectuer tout au long de la vie des femmes ayant un ST.

Ces recommandations sont rédigées régulièrement mais aucune évaluation de leur application ni du suivi médical des patientes 'dans la vraie vie' n'a été effectuée. C'est grâce à une cohorte nationale de jeunes femmes de 22 ans en moyenne qui ont répondu à un questionnaire que nous avons pu évaluer la réalité du suivi de ces jeunes femmes à la période de transition. Nous avons aussi recherché les facteurs influençant de façon statistiquement significative, ce suivi.

La problématique du suivi lors de la transition est commune à différentes pathologies chroniques, et, alors que les textes de recommandations sont fréquents, très peu de données réelles sont disponibles à la fois sur ce suivi et encore moins sur les facteurs explicatifs de la poursuite du suivi.

1.2 Article 1

Determinants of Medical Care for Young Women with Turner Syndrome

Marie Devernay, Emmanuel Ecosse, Joël Coste, and Jean-Claude Carel

Department of Pediatric Endocrinology and Diabetology (M.D., J.-C.C.), Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale Unité 690 and Centre de Référence des Maladies Endocriniennes Rares de la Croissance, Robert Debré Hospital and University Paris 7 Denis Diderot, 75019, Paris, France; and Department of Biostatistics (E.E., J.C.), Groupe hospitalier Cochin-Saint Vincent de Paul and University Paris Descartes, 75014 Paris, France

Context: Turner syndrome is associated with reduced life expectancy. Lifelong follow-up is strongly recommended, but follow-up during the transition between pediatric and adult care has been little evaluated.

Objective: Our objective was to evaluate the medical follow-up of a population-based cohort of young adult patients.

Design, Setting, and Patients: A questionnaire study was conducted with a national cohort of 568 women, aged 22.6 ± 2.6 yr (range, 18.3–31.2), a mean of 6 yr after stopping GH treatment (StaTur cohort).

Main Outcome Measures: We assessed the proportion of patients with adequate follow-up at seven medical assessments over 4 yr and its determinants.

Results: Most participants were followed by gynecologists or general practitioners. Medical assessments were performed in 16% (audiometry) to 68% (lipid level determinations) of participants, with little consistency in individual patients. Only 20 of 568 patients (3.5%) underwent all assessments in the 4-yr period. Multivariate analysis identified the type of physician as the only factor consistently associated with follow-up, which was more adequate with endocrinologists than with other physicians. Other variables associated with at least one adequate follow-up assessment were paternal socioeconomic class, education level, number of Turner syndrome disease components, size of the medical center following the patient in childhood, and physical health dimensions of Short Form 36 questionnaire.

Conclusions: By contrast with the intensive medical follow-up in childhood, follow-up was grossly inadequate during the transition phase. During this phase, patients should be sent to physicians specializing in Turner syndrome and particular attention should be paid to patients with lower levels of education and from families of low socioeconomic status. (*J Clin Endocrinol Metab* 94: 3408–3413, 2009)

Turner syndrome (TS) is caused by the loss of all or part of the second sex chromosome and affects one in 2500 females (1, 2). This syndrome is characterized by short stature, dysfunctional gonads, cardiac and renal malformations, otological problems, and unusual phenotypic features.

TS diagnosis in childhood or adolescence usually leads to intensive medical evaluation and follow-up, including screening for and management of the various components of the syndrome and discussions concerning the possible use of GH and pubertal management (3, 4). Women with

ISSN Print 0021-972X ISSN Online 1945-7197

Printed in U.S.A.

Copyright © 2009 by The Endocrine Society

doi: 10.1210/jc.2009-0495 Received March 5, 2009. Accepted May 15, 2009.

First Published Online May 26, 2009

For editorial see page 3185

Abbreviations: SF-36, Short Form 36; TS, Turner syndrome.

TS have higher levels of morbidity (5) and mortality than other women (6–9), and their shorter life expectancy results principally from cardiovascular diseases (10, 11). Hearing problems are frequent and are associated with a poor quality of life and social isolation (7, 12, 13). Women with TS are also at increased risk of disorders such as osteoporosis, hypothyroidism, diabetes, and dyslipidemia (7, 9, 14, 15). Care must therefore continue after the transition from pediatric to adult healthcare services to ensure that the various medical conditions affecting women with TS throughout their lives are detected and managed. Recent international guidelines for the care of women with TS recommend measuring blood glucose levels, lipid levels, thyroid hormone levels, and liver enzyme levels every year and performing audiometry every 2–3 yr and cardiac imaging at least once every 5 yr (3).

Much emphasis has recently been placed on the importance of transitional care for chronic nonendocrine and endocrine diseases in childhood, and the need for coordinated programs has been stressed (3, 16–20). However, very few studies have examined transitional care and its determinants in real life (21).

We report here the prospective evaluation of medical follow-up for a population-based cohort of young adult patients with TS and an analysis of the determinants of the quality of medical follow-up with respect to recently issued guidelines.

Patients and Methods

Patients

The design of the StaTur study has been described in detail elsewhere (22–24). All patients with TS treated with GH between 1986 and 1997 in France ($n = 1518$) were included in the StaTur cohort, through a national register of GH-treated patients. Patients over the age of 18 yr on March 1, 2001 ($n = 891$), were selected to receive a questionnaire, and 568 (69% of those who received the questionnaire) participated. Participants were a mean of 2.7 cm taller than nonparticipants ($P < 0.005$). Participants and nonparticipants were similar in all other characteristics (see Refs. 12 and 22 for the flow chart of participants). The study was approved by the Clinical Research and Development Department of Assistance Publique-Hôpitaux de Paris. Informed consent was not required because the data for the period of treatment were collected as part of a mandatory national program, and patients were free to respond to the questionnaire.

Data collected

Data relating to features associated with TS, growth, treatment, and the size of the prescribing center were collected throughout childhood and adolescence (23, 24). The additional data collected through the questionnaire dealt with medical follow-up (type of physician consulted most recently, physicians consulted during the previous year, number of times different types of physician had been consulted during the previous year),

current health status, medication currently taken (including sex steroid hormone replacement therapy), assessments carried out over the last 4 yr (blood pressure, blood glucose concentration, determinations of thyroid hormones, liver enzymes and lipid concentrations, audiometry, and heart imaging), sociodemographic characteristics, and quality-of-life components. We used Coopersmith's Self-Esteem Inventory (SEI) (25), the Social Adjustment Scale Self-Report (SAS-SR) (26), the quality-of-life questionnaire Short Form 36 (SF-36) of the Medical Outcome Study (27), and General Health Questionnaire 12 (GHQ-12) (4, 28) to assess quality-of-life components.

Classification of medical follow-up

Recent guidelines recommend annual biochemical assessments (determinations of blood glucose, thyroid hormones, liver enzymes, and lipids), audiometry every 2–3 yr and cardiac imaging at least once every 5 yr (3) in patients not previously affected by the disease screened (*i.e.* hypothyroidism for thyroid hormone measurements). For each follow-up assessment, we classified the follow-up of each patient as follows: adequate if the assessment had been performed at least once within the last 4 yr, inadequate if the assessment had not been performed within the last 4 yr, and inapplicable for patients known to be affected with the disease screened by the assessment concerned (*i.e.* hypothyroidism for thyroid hormone measurements).

Determinants of medical follow-up

A series of ϕ -coefficients (a measurement of association between variables that is free from total sample size effects and can be interpreted as a correlation coefficient) was determined between the various follow-up assessments to assess their relationships to each other. As the relationships between assessments were found to be weak, we investigated the determinants of each follow-up assessment independently. In univariate and multivariate analyses, we included only patients with adequate and inadequate follow-up assessments. Those with inapplicable follow-up assessments were excluded. We used logistic regression to quantify the relationships between each assessment and clinical and demographic characteristics. Variables with P values < 0.05 in univariate analysis were then included in multiple logistic regression models. All calculations were carried out with SAS software, which includes standard programs for all the methods, algorithms, and criteria described above (SAS Institute Inc., Cary, NC).

Results

Medical follow-up

The medical and demographic characteristics of the participants are presented in Table 1. The mean age of the patients was 22.6 yr, and 95% of the women had consulted a physician during the previous year. During the previous year, 40% of patients had consulted an endocrinologist (29% had consulted an endocrinologist dealing only with adult patients; 11% had consulted a pediatric endocrinologist), 53% a gynecologist, 68% a general practitioner, and 6% a pediatrician. Ten percent of the patients had consulted a cardiologist or an ear, nose, and

TABLE 1. Medical and demographic data for the participants

	Result
Age when the questionnaire was sent (yr), mean $\pm$ sd (range)	22.6 $\pm$ 2.6 (18.3–31.2)
Socioeconomic status	
Paternal socioprofessional class, n (%)	
Retired, inactive	132 (23)
Manual worker	129 (23)
Nonmanual worker	305 (54)
Participant's level of education, n (%)	
Age <20 yr	203 (36)
Did not graduate from high school	144 (25)
High school graduation or higher	219 (39)
Age at start of GH treatment, n (%)	
<9 yr	103 (18)
10–13 yr	317 (56)
>13 yr	148 (26)
GH treatment, mean $\pm$ sd	
Duration of treatment (yr)	4.8 $\pm$ 2.2
Age at the end of GH treatment (yr)	16.7 $\pm$ 1.6
Duration of GH treatment, n (%)	
$\leq$ 3.5 yr	166 (29)
3.5–5.5 yr	213 (38)
>5.5 yr	189 (33)
Adult height, n (%)	
>152.1 cm (>-2 sd score)	233 (41)
146.5–152.1 cm	220 (39)
<146.5 cm (<-3 sd score)	115 (20)
Body mass index (kg/m ²), n (%)	
$\leq$ 20.5	121 (21)
20.5–25	269 (47)
>25	127 (22)
Missing data	51 (9)
Karyotype, n (%)	
45,X	299 (53)
Other	269 (48)
Disease components of TS, n (%)	
Otolological involvement	149 (26)
Cardiac involvement	71 (12)
Diabetes	12 (2)
Thyroid disease	89 (16)
Liver disease	22 (4)
Lipid abnormalities	15 (3)
Hypertension	26 (5)
Number of disease components of TS, n (%)	
0	291 (51)
1	205 (36)
$\geq$ 2	72 (13)
SF-36 score	
Physical functioning (0–100)	92.7
Role limitations (physical) (0–100)	92.4
Bodily pain (0–100)	86.7
General health perception (0–100)	74.5
Vitality (0–100)	59.5
Social functioning (0–100)	81.1
Role limitations (emotional) (0–100)	83.4
Mental health (0–100)	64.1

(Continued)

TABLE 1. Continued

	Result
Size of the medical center that followed the patient during childhood, n (%)	
Large (following 25–56 patients each, six centers)	188 (33)
Medium-sized (following 10–24 patients each, 12 centers)	183 (32)
Small (following fewer than 10 patients each, 94 centers)	197 (35)
Specialty of physicians consulted during the previous year, n (%)	
Endocrinologists treating adults	162 (29)
Pediatric endocrinologists	60 (11)
Gynecologists	303 (53)
Pediatricians	34 (6)
General practitioners	388 (68)
Cardiologist or an ear, nose, and throat specialist	57 (10)
None	27 (0.5)

throat specialist. Patients followed in large, medium-sized, or small centers in childhood had consulted an endocrinologist treating adults in 31, 22, and 32% of cases, respectively, or had consulted a pediatric endocrinologist in 10, 15, and 8% of cases, respectively, indicating that patients followed at medium-sized centers tended to stay with the pediatric endocrinologist longer.

Details of the medical follow-up assessments performed during the previous 4 yr are presented in Table 2. Lipid determinations were the most frequently performed biological tests (68% of patients) followed, in decreasing order of frequency, by determinations of blood glucose, thyroid hormone, and liver enzyme levels. Only 21% of patients without known heart disease had undergone echocardiography. Similarly, only 17% of women without a known otological condition had undergone audi-

TABLE 2. Medical assessments performed in patients with TS

Assessments	Follow-up		
	Adequate	Inadequate	Inapplicable
Lipid levels	377 (68)	176 (32)	15
Blood pressure	335 (62)	207 (38)	26
Blood glucose	302 (54)	254 (45)	12
Thyroid hormones	173 (36)	306 (64)	89
Liver enzymes	88 (16)	458 (84)	22
Audiometry	71 (17)	348 (83)	149
Echocardiography	105 (21)	392 (79)	71

For each assessment, patients were classified into those with adequate follow-up (test performed within the last 4 yr), inadequate follow-up (no test within the last 4 yr), and inapplicable if the patient already had the disease targeted by the assessment. Results are shown as numbers (percentages) of patients for whom the assessment was needed (adequate plus inadequate follow-up), excluding from the calculation those for whom the assessment was inapplicable).

ometry assessments during the last 4 yr. Only 20 of 568 patients (3.5%) had undergone all the recommended assessments; 91 of 568 patients (16%) had undergone none of the recommended assessments.

Determinants of medical follow-up

The ϕ -coefficients ranged from 0.13–0.58 (mean 0.25), indicating little consistency in the assessments performed for an individual patient (Table 3). Determinants were therefore analyzed independently for each follow-up assessment. We evaluated 18 potential explanatory variables in univariate analysis and found that 10 variables were associated with at least one of the follow-up assessments (supplemental Table 1, published as supplemental data on The Endocrine Society's Journals Online web site at <http://jcem.endojournals.org>). The type of physician consulted was associated with the adequacy of all follow-up measurements, with more assessments carried out by endocrinologists (pediatric or adult) than by general practitioners or gynecologists. Daughters of nonmanual workers had more adequate follow-up than daughters of manual workers for four of the seven measurements. Patients followed at large centers had more adequate follow-up for three of the seven assessments than those followed at small centers. Patients with lower SF-36 physical (but not psychological) scores for health-related quality of life had more adequate follow-up assessment for four of the seven assessments than patients with higher scores. Other variables were less consistently associated with the adequacy of medical follow-up (one or two of the seven assessments). These variables included the level of education of the participant (more adequate follow-up for patients with a higher level of education), age at start and duration of GH treatment (audiometry more adequate in those who were younger at the start of treatment and treated for longer periods), adult size (assessment more adequate in leaner and taller patients), and number of TS components (follow-up more adequate in those with larger numbers of disease components). Variables not associated with the adequacy of any of the follow-up assessments included professional situation, age at the time of questionnaire evaluation, marital status, living with parents, karyotype, and Self-Esteem Inventory, Social Adjust-

ment Scale Self-Report, and General Health Questionnaire 12 scores.

Multivariate models were constructed to identify the determinants of adequacy for each follow-up measurement (supplemental Table 2). Six variables were associated with at least one of the seven follow-up assessments. In accordance with the low ϕ -coefficients of correlation between these variables, four of these six explanatory variables were retained in only one or two of the seven models. The type of physician consulted during the previous year was the only variable consistently associated with the adequacy of follow-up assessments, with endocrinologists (adult or pediatric) performing better than general practitioners or gynecologists. Other variables associated with the adequacy of follow-up in the multivariate models included paternal socioprofessional class, participant's educational level, number of disease components of TS, SF-36 score, and size of the medical center that followed the patient during childhood.

Discussion

This is the first study to assess the adequacy of medical follow-up and its determinants in a population-based cohort of women with TS during the transition between pediatric and adult care. The most striking finding of this study is that only 3.5% (20 of 568) of the patients had undergone medical follow-up assessments in line with recent international recommendations. Furthermore, follow-up was grossly insufficient for most assessments, leaving women at risk of undetected disease. We found that being followed by an endocrinologist rather than another type of physician had the greatest impact on the quality of follow-up. In addition, higher paternal socioeconomic class, a higher level of education, having one or several associated morbidities due to TS, being followed at a large center in childhood, and lower scores for the physical dimensions of quality of life were all associated with better medical follow-up for at least one type of assessment.

Other studies have evaluated the medical follow-up of young adults with TS and addressed some of the issues discussed here (29, 30). In a study of 102 patients with

TABLE 3. ϕ -Coefficients between the different assessments

	Blood pressure	Blood glucose	Thyroid hormones	Liver enzymes	Audiometry	Echocardiography
Lipid levels	0.32	0.58	0.37	0.21	0.18	0.13
Blood pressure		0.40	0.21	0.19	0.18	0.18
Blood glucose			0.38	0.37	0.19	0.40
Thyroid hormones				0.20	0.20	0.13
Liver enzymes					0.24	0.15
Audiometry						0.18

similar characteristics performed in Belgium, the distribution of medical specialties for the physicians consulted was similar to that reported here, and a higher proportion of patients (13%) were not followed at all (29). A study in the United States reported that one third of patients (46 of 126) with a mean age of 36 yr had undergone echocardiography, renal ultrasound, and audiometry at least once, whereas another third had never undergone echocardiography (30). Our results are consistent with these findings, with only 21% of the patients having undergone echocardiography in the last 5 yr.

The comprehensive data collection in our study made it possible not only to describe the follow-up of patients and consistency with international guidelines but also to investigate the determinants of adequate follow-up, potentially making it possible to improve the situation in the future. However, we found no general pattern identifying patients likely to be followed adequately or inadequately. Instead, we identified various explanatory factors associated with some but not all of the follow-up variables examined. Higher paternal socioeconomic class and personal educational level were associated with the quality of follow-up, with educated individuals from more affluent families more likely to be adequately followed in early adulthood. Our findings were obtained in the context of the French health system, in which the diagnosis of TS leads to lifelong reimbursed follow-up for all aspects of the disease. Economic limitations to healthcare use are therefore unlikely to be directly responsible for these differences. Lower scores for the physical dimensions of the SF-36 health-related quality-of-life questionnaire, reflecting a larger number of somatic complaints and larger numbers of TS disease components probably resulting in a larger number of medical visits, were associated with a larger number of assessments being performed. The type of physician was clearly associated with the quality of medical assessment, with endocrinologists (adult or pediatric) providing more adequate follow-up. In addition, follow-up (particularly for audiometry) was more intensive for patients who had been followed at large centers in childhood.

Transitional care is important for many chronic childhood diseases (3, 16–20), and coordinated programs seem to improve both quality of life and quality of care (31). A lower level of education was cited as a factor potentially affecting the quality of care during the transition period in a recent review (16). However, few studies have examined the determinants of the actual transition from childhood to adult care. A study on transitional care for patients with congenital heart defects including 50% of patients who had failed transition found that disease severity, precise recommendations on transition from the pediatric center,

markers of compliance with follow-up in childhood, attending the pediatric clinic without parents, the patient's personal belief in health, and not using substances were associated with a successful transition (21). Although the conditions, design of the study, and the outcome parameters examined differed from those studied here, it is interesting to note that similar factors were identified, indicating a need for a global policy on transitional care in pediatrics.

Our study has several limitations that should be discussed. Although the rate of participation (69%) was high, it is reasonable to assume that the follow-up of nonparticipants was less adequate than that of participants. The results of our survey may therefore overestimate the quality of follow-up. The cohort was recruited on the basis of GH treatment, and the associated intensive follow-up of patients treated with GH during childhood might not be representative of the care of young women with TS in general. However, as the vast majority of patients with TS are currently treated with GH, our results nonetheless reflect current practice (3, 4). The follow-up data were obtained with a self-reported questionnaire, and we cannot exclude the possibility that some patients gave erroneous information. However, although such errors may affect the components of biochemical testing, they are unlikely to affect the recollection of echocardiography or audiometry. In addition, it should be remembered that the guidelines for follow-up of women with TS are not, for the most part, evidence-based, although they were carefully formulated and based on the available literature (3).

What are the practical implications of our findings? Given the relative rarity of TS, general medical education is unlikely to improve this situation, and we therefore recommend the identification of physicians with specific knowledge of and interest in TS, in whose hands the care of these patients could be placed. We need to improve patient education and information, healthcare organization, and patient support groups and to increase patient access to physicians or centers caring for TS patients in adulthood. These interventions should target women from lower socioprofessional classes, with lower levels of education in particular, and should probably start early in adolescence. In addition, it will be essential to evaluate the impact on health that can be obtained from the use of current guidelines to better establish the intensity of surveillance that is needed for optimal health in this population.

Acknowledgments

We thank the StaTur investigators for assistance with the organization of the study, and the clinicians involved in the follow-up of the patients included in the study, all listed in Refs. 12, 22, and 23.

Address all correspondence and requests for reprints to: Prof. Jean-Claude Carel, Pediatric Endocrinology and Institut National de la Santé et de Recherche Médicale Unité 690, Hôpital Robert Debré, 48 boulevard Sérurier, 75019 Paris, France. E-mail: jean-claude.carel@inserm.fr.

The study was supported by a grant from the Ministère de la Santé, Program Hospitalier de Recherche Clinique AOM98009 and by a grant from the Wyeth Foundation. M.D. was supported by grants from Société Française d'Endocrinologie-Ipsen and Société Française d'Endocrinologie Diabétologie Pédiatrique-Pfizer.

Disclosure Summary: We report conflicts of interest with several GH manufacturers; J.-C.C. has been an investigator in several clinical trials of GH, has received fees for speaking at meetings and symposia, and has been invited to national and international meetings. M.D.L., E.E., and J.C. have no conflict of interest to report.

References

- Nielsen J, Wohler M 1991 Chromosome abnormalities found among 34,910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Arhus, Denmark. *Hum Genet* 87:81–83
- Sybert VP, McCauley E 2004 Turner's syndrome. *N Engl J Med* 351:1227–1238
- Bondy CA 2007 Care of girls and women with Turner syndrome: a guideline of the Turner Syndrome Study Group. *J Clin Endocrinol Metab* 92:10–25
- Carel JC 2005 Growth hormone in Turner syndrome: twenty years after, what can we tell our patients? *J Clin Endocrinol Metab* 90:3793–3794
- Gravholt CH, Juul S, Naeraa RW, Hansen J 1998 Morbidity in Turner syndrome. *J Clin Epidemiol* 51:147–158
- Schoemaker MJ, Swerdlow AJ, Higgins CD, Wright AF, Jacobs PA 2008 Cancer incidence in women with Turner syndrome in Great Britain: a national cohort study. *Lancet Oncol* 9:239–246
- Elsheikh M, Dunger DB, Conway GS, Wass JA 2002 Turner's syndrome in adulthood. *Endocr Rev* 23:120–140
- Schoemaker MJ, Swerdlow AJ, Higgins CD, Wright AF, Jacobs PA 2008 Mortality in women with Turner syndrome in Great Britain: a national cohort study. *J Clin Endocrinol Metab* 93:4735–4742
- Stochholm K, Juul S, Juul K, Naeraa RW, Gravholt CH 2006 Prevalence, incidence, diagnostic delay, and mortality in Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 91:3897–3902
- Lin AE, Lippe B, Rosenfeld RG 1998 Further delineation of aortic dilation, dissection, and rupture in patients with Turner syndrome. *Pediatrics* 102:e12
- Ostberg JE, Brookes JA, McCarthy C, Halcox J, Conway GS 2004 A comparison of echocardiography and magnetic resonance imaging in cardiovascular screening of adults with Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 89:5966–5971
- Carel JC, Ecosse E, Bastie-Sigeac I, Cabrol S, Tauber M, Léger J, Nicolino M, Brauner R, Chaussain JL, Coste J 2005 Quality of life determinants in young women with Turner syndrome after growth hormone treatment: results of the StaTur population-based cohort study. *J Clin Endocrinol Metab* 90:1992–1997
- Hultcrantz M, Sylvén L 1997 Turner's syndrome and hearing disorders in women aged 16–34. *Hear Res* 103:69–74
- Livadas S, Xekouki P, Fouka F, Kanaka-Gantenbein C, Kaloumenou I, Mavrou A, Constantinidou N, Dacou-Voutetakis C 2005 Prevalence of thyroid dysfunction in Turner's syndrome: a long-term follow-up study and brief literature review. *Thyroid* 15:1061–1066
- Conway GS 2002 The impact and management of Turner's syndrome in adult life. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 16:243–261
- Viner RM 2008 Transition of care from paediatric to adult services: one part of improved health services for adolescents. *Arch Dis Child* 93:160–163
- American Academy of Pediatrics; American Academy of Family Physicians; American College of Physicians-American Society of Internal Medicine 2002 A consensus statement on health care transitions for young adults with special health care needs. *Pediatrics* 110:1304–1306
- McDonagh JE 2007 Transition of care from paediatric to adult rheumatology. *Arch Dis Child* 92:802–807
- McLaughlin SE, Diener-West M, Indurkha A, Rubin H, Heckmann R, Boyle MP 2008 Improving transition from pediatric to adult cystic fibrosis care: lessons from a national survey of current practices. *Pediatrics* 121:e1160–e1166
- Clayton PE, Cuneo RC, Juul A, Monson JP, Shalet SM, Tauber M 2005 Consensus statement on the management of the GH-treated adolescent in the transition to adult care. *Eur J Endocrinol* 152:165–170
- Reid GJ, Irvine MJ, McCrindle BW, Sananes R, Ritvo PG, Siu SC, Webb GD 2004 Prevalence and correlates of successful transfer from pediatric to adult health care among a cohort of young adults with complex congenital heart defects. *Pediatrics* 113:e197–e205
- Carel JC, Elie C, Ecosse E, Tauber M, Léger J, Cabrol S, Nicolino M, Brauner R, Chaussain JL, Coste J 2006 Self-esteem and social adjustment in young women with Turner syndrome: influence of pubertal management and sexuality: population-based cohort study. *J Clin Endocrinol Metab* 91:2972–2979
- Soriano-Guillen L, Coste J, Ecosse E, Léger J, Tauber M, Cabrol S, Nicolino M, Brauner R, Chaussain JL, Carel JC 2005 Adult height and pubertal growth in Turner syndrome after treatment with recombinant growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 90:5197–5204
- Carel JC, Ecosse E, Nicolino M, Tauber M, Léger J, Cabrol S, Bastie-Sigeac I, Chaussain JL, Coste J 2002 Adult height after long-term recombinant growth hormone treatment for idiopathic isolated growth hormone deficiency: observational follow-up study of the French population-based registry. *BMJ* 325:70–73
- Coopersmith S 1981 SEI (Self-Esteem Inventories). Palo Alto, CA: Consulting Psychologists Press
- Weissman MM, Bothwell S 1976 Assessment of social adjustment by patient self-report. *Arch Gen Psychiatry* 33:1111–1115
- Leplège A, Ecosse E, Verdier A, Perneger TV 1998 The French SF-36 Health Survey: translation, cultural adaptation and preliminary psychometric evaluation. *J Clin Epidemiol* 51:1013–1023
- Goldberg D 1972 The detection of psychiatric illness by questionnaire. London: Oxford University Press
- Verlinde F, Massa G, Lagrou K, Froidecoeur C, Bourguignon JP, Craen M, De Schepper J, Du Caju M, Heinrichs C, François I, Maes M 2004 Health and psychosocial status of patients with Turner syndrome after transition to adulthood: the Belgian experience. *Horm Res* 62:161–167
- Bondy C, Bakalov VK, Lange ED, Cenicer I 2006 Deficient medical care for adults with the Turner syndrome. *Ann Intern Med* 145:866–867
- McDonagh JE, Southwood TR, Shaw KL; British Society of Paediatric and Adolescent Rheumatology 2007 The impact of a coordinated transitional care programme on adolescents with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 46:161–168

Supplementary Table 1: Determinants of the adequacy of medical care for young women with Turner syndrome – Univariate analysis

	Lipid levels			Blood pressure			Blood glucose			Thyroid hormones			Liver enzyme			Audiometry			Echocardiography		
	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p
Paternal socioprofessional class																					
Retired – Inactive							1.18	0.78-1.80	NS				0.76	0.43-1.34	NS	0.82	0.45-1.51	NS	0.93	0.56-1.56	NS
Manual worker							0.60	0.40-0.92	0.02				0.51	0.27-0.98	0.04	0.48	0.23-1.01	0.05	0.52	0.28-0.97	0.04
Non manual worker							1						1			1			1		
Participant's level of education																					
Age<20 years	0.66	0.43-1.01	NS	0.66	0.44-1.00	0.05															
Did not graduate from high school	0.53	0.33-0.84	7.10 ⁻³	0.48	0.31-0.76	10 ⁻³															
High-school graduation or higher	1			1																	
Age at start of GH treatment (years)																					
<9																3.09	1.40-6.80	5.10 ⁻³			
10 – 13																1.67	0.84-3.34	NS			
>13																1					
Duration of growth hormone treatment																					
≤3.5 years																0.48	0.25-0.91	0.02			
3.5 to 5.5 years																0.54	0.30-0.99	0.05			
>5.5 years																1					
Adult height																					
>152.1 cm (> -2 SDS)	1						1									1					
146.5 to 152.1 cm	1.18	0.78-1.78	NS				0.66	0.45-0.96	0.03							0.79	0.45-1.37	NS			
<146.5 cm (≤-3 SDS)	0.61	0.38-0.97	0.04				0.70	0.44-1.11	NS							0.39	0.17-0.89	0.02			
Body mass index (kg/m²)																					
≤20.5													1								
20.5 – 25													0.69	0.40-1.20	NS						
>25													0.44	0.21-0.90	0.02						
missing data													0.50	0.19-1.32	NS						
Number of disease components of Turner syndrome																					
0																1			1		
1																1.78	1.02-3.11	0.04	2.45	1.54-3.88	10 ⁻⁴
≥ 2																2.74	1.06-7.08	0.04	2.18	1.01-4.69	0.05
SF-36 score																					
General health										0.99	0.99-1.00	NS	0.99	0.98-1.00	NS	0.99	0.98-1.01	NS	0.99	0.98-1.00	0.02
Physical functioning										0.99	0.97-1.00	NS	0.98	0.97-1.00	0.03	0.99	0.97-1.01	NS	1.00	0.98-1.01	NS
Role limitations (physical)										0.99	0.98-1.00	0.04	0.99	0.98-1.00	NS	0.98	0.97-1.00	0.02	1.00	0.99-1.01	NS
Size of the medical center that followed the patient during childhood																					
Large													1			1			1		
Medium-sized													0.78	0.46-1.34	NS	0.48	0.26-0.84	0.02	1.23	0.74-2.05	NS
Small													0.47	0.26-0.84	0.01	0.34	0.18-0.64	10 ⁻⁴	0.58	0.33-1	0.05

Specialty of the physicians consulted during the previous year (yes/no)																					
Endocrinologists treating adults	1.88	1.23-2.89	4 10 ⁻³	1.49	1.00-2.22	0.05	1.70	1.16-2.48	6 10 ⁻³	2.61	1.70-4.00	10 ⁻⁴	1.19	0.73-1.96	NS	1.68	0.99-2.87	NS	1.59	1.01-2.51	0.05
Pediatric endocrinologists	1.90	0.98-3.68	NS	1.46	0.82-2.62	NS	2.40	1.32-4.39	4 10 ⁻³	3.30	1.80-6.04	10 ⁻⁴	2.15	1.13-4.09	0.02	2.95	1.49-5.85	2 10 ⁻³	2.56	1.40-4.68	2 10 ⁻³
General practitioners	1.56	1.08-2.28	0.02	1.47	1.01-2.12	0.04	1.21	0.84-1.73	NS	1.03	0.69-1.55	NS	0.89	0.55-1.44	NS	0.86	0.51-1.45	NS	1.04	0.65-1.64	NS
Gynecologists	1.13	0.79-1.61	NS	1.12	0.80-1.59	NS	0.93	0.67-1.31	NS	0.97	0.67-1.42	NS	0.63	0.40-1.00	NS	0.75	0.45-1.25	NS	0.57	0.37-0.88	0.01
Pediatricians	1.13	0.53-2.41	NS	0.78	0.38-1.61	NS	1.00	0.50-2.05	NS	0.74	0.33-1.66	NS	1.44	0.60-3.42	NS	0.93	0.31-2.80	NS	1.62	0.69-3.81	NS

The odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI) of the association of explanatory variables with the adequacy of medical assessments are presented. Results are presented for variables associated with a p value < 0.05 with at least one of the assessments. Variables not associated with follow-up assessments include professional situation, age at the time of the questionnaire, marital status, living with parents, karyotype, SEI, SAS-SR and GHQ-12 scores.

Supplementary Table 2: Determinants of the adequacy of medical care for young women with Turner syndrome – Multivariate analysis

	Lipid levels			Blood pressure			Blood glucose			Thyroid hormones			Liver enzyme			Audiometry			Echocardiography		
	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p
Paternal socioprofessional class																					
Retired – Inactive							-	-	-				-	-	-						
Manual worker							0.64	0.41-0.98	0.04				0.40	0.20-0.80	0.01						
Non manual worker							1						1								
Participant's educational level																					
Age<20 yr	0.64	0.41-0.99	0.04	-	-	-															
Did not graduate from high school	0.56	0.34-0.91	0.02	0.49	0.31-0.78	2.10 ⁻³															
High-school graduation or higher	1			1																	
Number of disease components of Turner syndrome																					
0																			1		
1																			2.51	1.56-4.04	10 ⁻⁴
≥ 2																			-	-	-
SF36 score																					
Physical functioning									0.98	0.97-1.00	0.02		0.98	0.96-0.99	0.01	-	-	-			
Role limitations (physical)									-	-	-		-	-	-	0.99	0.97-1.00	0.03			
Size of the medical center that followed the patient during childhood																					
Large																1					
Medium-sized																0.48	0.25-0.93	0.03			
Small																0.33	0.17-0.65	10 ⁻³			
Specialty of physicians consulted during the previous year (yes/no)																					
Endocrinologists treating adults	2.01	1.29-3.14	2 10 ⁻³				1.84	1.24-2.72	2 10 ⁻³	3.19	2.03-5.01	10 ⁻⁴				2.07	1.13-3.77	0.02	-	-	-
Pediatric endocrinologists	2.53	1.26-5.10	9 10 ⁻³				2.63	1.41-4.91	2 10 ⁻³	4.18	2.21-7.88	10 ⁻⁴				4.25	1.98-9.14	2 10 ⁻⁴	1.95	1.01-3.74	0.04
General practitioners	1.65	1.10-2.45	0.01				-	-	-	-	-	-				-	-	-	-	-	-
Gynecologists	-	-	-				-	-	-	-	-	-				-	9.14	-	0.58	-	0.02
Pediatricians	-	-	-				-	-	-	-	-	-				-	-	-	-	0.37-0.93	-
																-	-	-	-	-	-

The odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI) of the association of explanatory variables with the adequacy of medical assessments are presented. Results are presented for variables associated with a p value < 0.05 with at least one of the assessments.

1.3 Matériel et méthode

Nous avons à notre disposition les données de la base France-Hypophyse ([Annexe 2](#)). Ces données ont été complétées par des données plus récentes : les réponses des **questionnaires** StaTur ([Annexe 3](#)).

1.4 Résultats

Nous avons étudié la proportion de jeunes femmes avec un ST ayant un suivi en accord avec les recommandations internationales (Bondy 2007) et les facteurs déterminants d'un bon suivi à cette période de transition entre la pédiatrie et la médecine adulte.

Pour cela nous avons calculé le pourcentage de femmes qui ont effectué, au moins une fois en 4 ans, chacun des 7 examens suivants : mesure de la tension artérielle, bilan lipidique, glycémie, bilan thyroïdien, enzymes hépatiques, audiométrie et échographie cardiaque. Nous avons exclu de l'étude les patientes atteintes d'une pathologie ciblée par un examen (exemple : si la patiente a un hypothyroïdie, elle est exclue de l'étude en ce qui concerne la surveillance du bilan thyroïdien).

Seulement 3,5% (20/568) de la cohorte avait effectué tous les examens recommandés à l'âge moyen de 22 ans.

16% (91/568) des femmes n'ont effectué aucun des examens recommandés.

Pour chaque élément de suivi, le pourcentage de tests réalisés allait de 16% pour le dosage des enzymes hépatiques à 68% pour le bilan lipidique. 17% ont eu une audiométrie, 21% une échographie cardiaque, 36% ont effectué un dosage des hormones thyroïdiennes, 54% ont eu une glycémie et 62% ont eu au moins une prise de tension artérielle en 4 ans.

Les facteurs associés (en analyse multi variée) à une transition réussie sont le type de médecin suivant la patiente, la taille du centre pédiatrique dans laquelle se trouvait la patiente, le niveau socio-économique des parents, le niveau d'éducation, les dimensions physiques de la qualité de vie perçue et le nombre d'atteintes liées au syndrome de Turner.

Sachant qu'un suivi par un endocrinologue (pédiatre ou adulte), qu'un grand centre, qu'un plus haut niveau socio-économique parental, qu'un meilleur niveau d'étude, que des scores plus bas concernant les dimensions physiques de la qualité de vie et qu'un plus grand nombre de pathologies liées au ST sont associés à un meilleur suivi lors de la transition. Ces résultats constituent une approche originale de la transition, rarement abordée sous un angle de médecine basée sur des preuves.

1.5 Discussion

Le suivi lors de la période de transition est très loin des recommandations actuelles.

Comme pour toute maladie rare, l'organisation de la prise en charge n'est pas simple et fait souvent appel à des équipes multidisciplinaires. Pour que recommandations soient suivies par les médecins eux-mêmes, elles doivent être facile d'accès et simples à utiliser. Certains pays adaptent les recommandations internationales (Bondy 2007) dans le but de les simplifier ou en apportant quelques modifications (PNDS 2008) et Conway G.S. dans l'édito ci-dessous.

Edito publié dans *journal of clinical metabolism and endocrinology* par Conway G.S. en septembre 2009 :

Adult Care of Pediatric Conditions: Lessons from Turner's Syndrome

Gerard S. Conway

Consultant Endocrinologist, Department of Endocrinology, University College London Hospitals, London NW1 2PQ, United Kingdom

Transition from pediatric to adult care receives a lot of column inches in medical journals, but there is little in the way of real evidence regarding the process. The paper by Devernay *et al.* (1) is one of a very few that begins to inform us of factors that determine successful transition of a common endocrine condition—Turner's syndrome (TS). This paper reveals what we all may have suspected to be true; only a small minority of girls with TS (3.5%) transition to an adult service that provides health surveillance according to international guidelines.

The authors have taken advantage of a cohort of girls with TS who were ascertained by virtue of their receiving GH between 1986 and 1997. Those that were over 18 were targeted for a postal questionnaire. The response rate of 69% from the original 891 is impressively high for this type of exercise. The nonrespondents were 2.7 cm shorter than the respondents, possibly because they were more severely affected or less compliant with GH therapy. Whichever was the case, the outcomes must be seen as better than might be expected for the whole cohort. The average age of the study group was 22 yr, which was about 6 yr after they stopped treatment with GH.

The main outcome of only 3.5% of subjects receiving optimal adult care may not be surprising because the reference guidelines for follow-up of TS describe a gold standard that few centers would achieve in reality (2). Consider, however, two essential tests for TS care. Only 36% of subjects had a simple thyroid function testing (probably the single most cost-effective test), and only 21% of subjects without known heart disease had had an echocardiogram (the single most effective life-saving maneuver). Endocrinologists can take heart from the fact that they

performed better than other care groups in the standard of care provided, and this is important evidence for TS health care to come firmly under the endocrine umbrella.

Suboptimal adult care for women with TS is not unique to France. Smaller studies from Belgium and the United States have highlighted similar problems (3, 4). It is humbling that even in the French system, with full lifetime reimbursement for TS, the most vulnerable groups are lost—those of lower socioeconomic grouping and educational level. This observation makes the point that a cardinal issue in transition is case tracking. Often, when considering the process of transition, emphasis is placed on combined clinics, shared protocols, and “meeting the new team.” It may be that the administrative task of following up each case is the most essential component of transition with the pediatric team making contact with patients within 1 yr of handover to make sure that adequate future care has been established. Throughout health systems, the structure of care all too often prioritizes convenience for the physician rather than effectiveness for the patient. In the light of current discussions taking place in the United States regarding healthcare, one voice that is seldom heard is that of patients with chronic conditions. In the patient support groups for TS, congenital adrenal hyperplasia, and disorders of sexual development, there is a constant complaint that a private insurance system seldom meets the needs of individuals with chronic conditions where multidisciplinary teams are considered optimal.

The rather dismal outcome in the paper by Devernay *et al.* (1) has relevance across many lifelong conditions in endocrinology including hypopituitarism, Klinefelter's syndrome, congenital adrenal hyperplasia, and disorders of sexual development. Among these, TS stands out as

ISSN Print 0021-972X ISSN Online 1945-7197

Printed in U.S.A.

Copyright © 2009 by The Endocrine Society

doi: 10.1210/jc.2009-1457 Received July 9, 2009. Accepted July 22, 2009.

For article see page 3408

Abbreviation: TS, Turner's syndrome.

TABLE 1. Adult TS: a guideline for monitoring

Example consultation points	
Estrogen	Estrogen replacement required until ~age 50 yr (or older if many years of estrogen deficiency) to prevent osteoporosis. Consider change to transdermal estrogen if hypertensive. Review sexual function and need for vaginal estrogen.
Psychological	Review possible psychological danger zones including relationships, workplace, anxiety or obsessive behavior, and low mood. Infertility is reported to be the hardest feature of TS. Problems are responsive to targeted clinic psychology support.
Fertility	Ovum donation or adoption discussion as required. Medical review on the advisability of pregnancy with regard to risk of aortic dissection is required. Guidance regarding access to egg donation as required. Support for adoption agencies may be relevant.
Hearing	Deafness is common, and self-reporting is unreliable. Otitis media, which can lead to conductive hearing loss, is common in childhood (60–80%). Sensorineural hearing loss common and progressive in adults.
Weight	Obesity may be due to low physical fitness and sedentary lifestyle, which are common in TS. Consider input from a nutritionist.
Blood pressure	Hypertension affects up to 50% of young adults and is a risk factor for aortic dissection. UCLH clinic guidelines suggest treating all women with an aortic root >3.0 cm, aiming for systolic blood pressure <140 mm Hg if tricuspid aortic valve or <120 mm Hg if bicuspid aortic valve.
Annual investigations	
Thyroid function	Increased risk of autoimmune thyroiditis. Hypothyroidism (24%), hyperthyroidism (2.5%).
Liver function	Liver enzymes commonly raised. Slowly progressive, improves with estrogen.
Lipid profile	Low-density lipoprotein and triglycerides commonly raised; treat to conventional guidelines.
Random glucose	High risk of developing impaired glucose tolerance (50%). Fasting glucose underestimates defect of insulin secretion. Low threshold for oral glucose tolerance testing.
Occasional investigations	
Echocardiogram	Perform routinely every 3–5 yr and annually if aortic root >3.0 cm. Bicuspid aortic valve 16% (with risk of valve stenosis or regurgitation) and aortic dilatation (50%) are risk factors for aortic dissection.
MRI of the aorta	May detect coarctation missed on echocardiography and so indicated for some cases of hypertension. Aortic MRI can detect multiple minor defects, the significance of which is unclear.
Bone density scan (BMD)	Bone density of spine reads low in short stature. Despite this, low BMD is associated with increased fracture risk. Osteoporosis can be treated as for any other condition.
Audiology	Perform routinely every 3–5 yr.
Celiac screen	Perform serology screen such as endomysial antibodies every 5 yr. The risk of celiac disease approximately 4–6%.

Adapted from Bondy (2) and based on clinical practice at University College London Hospitals (UCLH). MRI, Magnetic resonance imaging; BMD, bone mineral density.

having a low intensity of treatment but relatively high morbidity and mortality. One might expect that follow-up of children with hypopituitarism would be better than that for TS because of the complexity of multiple hormone deficiencies. If care systems were based on best use of resources, however, the reverse might be true. The standardized mortality ratio for TS is 3.0 compared with a ratio of 1.87 for hypopituitarism (5, 6), and simple antihypertensive therapy is likely to make a significant impact in life expectancy in TS.

In an adult TS clinic, an annual visit can be a quick inventory of any new medical or social problems or change in life plans such as wishing to start a family. An example of important points in the annual review for women with TS is shown in Table 1, the contents of which are based on our practice at University College London Hospitals. If new issues arise, then some women will depart from this monitoring program and attend more frequently to target a particular problem,

commonly hypothyroidism, diabetes, psychological problems, or preparation for pregnancy.

Where do we go from here? Common conditions such as at TS (approximately 60,000 affected females in the United States) warrant a lifelong care pathway. Particular attention should be given to methods by which the vulnerable, who tend to drift out of health systems, can be retained. It may be that the medical profession will only be part of this process of developing patient-centered health systems and that greater credence should be given to patient support groups to help develop the process.

Acknowledgments

Address all correspondence and requests for reprints to: Dr. Gerard S. Conway, Consultant Endocrinologist, Department of Endocrinology, University College London Hospitals, 250 Euston Road, London NW1 2PQ, United Kingdom. E-mail: g.conway@ucl.ac.uk.

Disclosure Summary: The author has no conflicts of interest to declare.

References

1. Devernay M, Ecosse E, Coste J, Carel JC 2009 Determinants of medical care for young women with Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 94:3408–3413
2. Bondy CA; Turner Syndrome Study Group 2007 Care of girls and women with Turner syndrome: a guideline of the Turner Syndrome Study Group. *J Clin Endocrinol Metab* 92:10–25
3. Verlinde F, Massa G, Lagrou K, Froidecoeur C, Bourguignon JP, Craen M, De Schepper J, Du Caju M, Heinrichs C, François I, Maes M 2004 Health and psychosocial status of patients with Turner syndrome after transition to adulthood: the Belgian experience. *Horm Res* 62:161–167
4. Bondy C, Bakalov VK, Lange ED, Cenicerros I 2006 Deficient medical care for adults with the Turner syndrome. *Ann Intern Med* 145:866–867
5. Schoemaker MJ, Swerdlow AJ, Higgins CD, Wright AF, Jacobs PA; United Kingdom Clinical Cytogenetics Group 2008 Mortality in women with Turner syndrome in Great Britain: a national cohort study. *J Clin Endocrinol Metab* 93:4735–4742
6. Tomlinson JW, Holden N, Hills RK, Wheatley K, Clayton RN, Bates AS, Sheppard MC, Stewart PM 2001 Association between premature mortality and hypopituitarism. West Midlands Prospective Hypopituitary Study Group. *Lancet* 357:425–431

The 14th International Thyroid Congress September 11–16, 2010 Palais des Congrès, Paris, France

Website: <http://www.itc2010.com>

Contact information for Secretariat of Congress

ITC 2010-MCI Paris
24, rue Chauchat
75009 Paris
Tel : (01)1 53 85 82 80
Fax : (01)1 53 85 82 83
Email: ITC2010info@mci-group.com

Key dates:

- Second announcement & call for abstracts: November 2009
- Deadline for abstracts submission: 30 April 2010

Deadline for early bird registration: 30 June 2010

2- Article 2 : *Turner syndrome and parental origin of X chromosome*

2.1 Introduction

Pour pouvoir conclure quant à l'influence de l'origine parentale du chromosome X sur le phénotype des femmes ayant un ST, une large cohorte de femmes ayant un ST avec un caryotype homogène 45,X associée à une description phénotypique précise est nécessaire. La cohorte Statur-X a donc été contactée pour participer à cette étude. Les analyses sont en cours de finalisation et l'article sera soumis prochainement.

2.2 Article 2

TITLE: Turner syndrome and parental origin of X chromosome

RUNNING TITLE:

AUTHORS: Marie Devernay¹, M.D., Diana Bolca¹, M.D., Bénédicte Gérard³, M.D., Jacques Elion^{3,4}, M.D., Céline Dupont^{5,6}, M.D., Azzedine Aboura⁵, M.D., Anne-Claude Tabet⁵, M.D., Brigitte Benzacken^{5,6}, M.D., Emmanuel Ecosse², statistician, Jean-Claude Carel¹, M.D.

1 Department of Pediatric Endocrinology and Diabetology, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale CIC-EC5 and Centre de Référence des Maladies Endocriniennes Rares de la Croissance, Robert Debré Hospital and University Paris 7 Denis Diderot, 75019, Paris, France

2 Department of Biostatistics, Groupe hospitalier Cochin - Saint Vincent de Paul and University Paris 5 René Descartes, 75014 Paris, France.

3 Laboratoire de biochimie génétique, Robert Debré Hospital, 75019, Paris, France

4 Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale U763, University Paris 7 Denis Diderot, Faculté de médecine, Paris, France

5 Laboratoire de Cytogénétique, Robert Debré Hospital, 75019, Paris, France

6 Service d'Histologie-Embryologie Cytogénétique Biologie de la Reproduction, Jean Verdier (AP-HP) Hospital, 93143, Bondy Cedex, France

CORRESPONDING AUTHOR:

Prof. Jean-Claude Carel, Pediatric Endocrinology and INSERM CIC-EC5, Hôpital Robert Debré, 48 boulevard Sérurier, 75019 Paris, France.

Phone: 33 1 40 03 41 05; Fax: 33 1 40 03 24 29; E-mail: jean-claude.carel@inserm.fr

WORD COUNT FOR TEXT: 2500

WORD COUNT FOR ABSTRACT: 399

NUMBER OF TABLES: 4

NUMBER OF FIGURES: 2

Supplementary data : 1

Keywords: Turner syndrome, imprinting, human X chromosome, phenotype

Conflicts of interest disclosure: Conflicts of interest with several growth hormone manufacturers: J-CC has been an investigator in several clinical trials of growth hormone, has received fees for speaking at meetings and symposia and has been invited to national and international meetings. MD, DB, BG,JE,CD,AA,A-CT,BB,EE: no conflict of interest.

ABSTRACT

Context. The phenotype in Turner syndrome (TS) is variable, even in patients with nonmosaic 45,X karyotype. Previous works suggested that there were X-linked parent-of-origin effects on the phenotype.

Objective. We evaluated the parent-of-origin effect of the X chromosome on the phenotype in a large cohort of women with Turner syndrome with nonmosaic 45,X karyotype.

Design, Setting, and Patients. A national cohort (Statur-X cohort) of 556 young women with Turner syndrome, aged 26.2 ± 4.2 yr (18.1–35.8) was contacted by mail. 230 (49%) TS patients and their mother participated. The parental origin of the normal X-chromosome was determined by comparing parental DNA polymorphisms using nine highly polymorphic microsatellite markers on the X-chromosome. By FISH (Fluorescent In Situ Hybridation) of the X chromosome, the absence of blood mosaic karyotype was checked.

Main outcome measures. The study determined the correlation between the parental origin of the X chromosome and phenotypic traits of TS including growth pattern, dysmorphic features, Turner syndrome disease components, and quality of life scales concerning SEI scale, SAS-SR scale and GHQ-12 score.

Results. 6 cases of previously unsuspected mosaicism were detected by FISH analysis and excluded from the study. Parental origin of the X chromosome was so assigned in 185 patients. 30,8% women had paternal chromosome X (57/185) and 69,2% maternal (128/185).

No significant differences were noted between X maternal and X paternal subjects for parents' heights and weights, midparental height, birth weight, and adult heights and weights, nor for dysmorphic features, Turner syndrome disease components: dysmorphic features, otological involvements, ophthalmologic anomalies, cardiac involvements, renal anomalies, hypertension, thyroid diseases, coeliac diseases, lipid abnormalities, liver diseases, diabetes. The quality of life scales were similar between the X paternal group and the X maternal group concerning SEI scale,

SAS-SR scale and GHQ-12 score.

The subgroup with X paternal was shorter at birth than the X maternal group with a lower gestational age, the height adjusted on gestational age is not different between the two groups.

In all subjects, and in each ones of the X paternal group and X maternal group, patient's adult height correlates both with mother's and father's height. However, in the X paternal group, patient height correlates weakly with father's height ($r=0.34$, $p=0.01$).

Conclusion. The parental origin of X chromosome has an impact on birth height and gestational age. This suggests a potential effect of an as-yet-undetermined X chromosome gene imprinting.

Introduction

Turner syndrome represents the only human monosomic viable disease. For the same chromosomal anomaly, 45,X the spectrum of phenotypes is wide (height, associated diseases, dysmorphic features, puberty spontaneous or not, etc); these differences can be partially explained by genetic variations. Dysregulation of imprinting mechanisms has been linked to altered viability, fetal and postnatal growth, neurological development, behavioral and metabolic status.

Turner syndrome allows us to study, the impact of a potential X chromosome imprinting effect on the phenotype. Genomic imprinting involves the selective expression of certain genes determined by their parental origin, often associated with DNA methylation of imprinted. In mice, a cluster of X-linked imprinted genes had been identified (neurological phenotypes are different in XmO versus XpO mice and correlated with different X linked genes expression) (Davies, Isles et al. 2005) (Raefski and O'Neill 2005).

In Turner syndrome, results are discordant : Skuse (Skuse, James et al. 1997) showed the women who inherited for Xp had a better social adaptation score; Ergur found the parental origin of X chromosome correlates with arithmetics functions (Ergur, Ocal et al. 2008), and for Cutter (Cutter, Daly et al. 2006) and Kesler (Kesler, Garrett et al. 2004), it correlates with differences at the neuro-imagery. Authors described a relation between mother height and height of the TS women with Xm (Chu, Donaldson et al. 1994) (Ko, Kim et al. 2010) (Kochi, Longui et al. 2007) (Hamelin, Anglin et al. 2006); Hamelin proves that the GH response and the sensorineural hearing loss were imprinted (Hamelin, Anglin et al. 2006). In Sagi's study (Sagi, Zuckerman-Levin et al. 2007) dysmorphic anomalies were different in function of parental origin of X chromosome; however, other studies did not find any effect of parental origin of X chromosome on phenotype (Bondy, Matura et al. 2007) (Kesler, Garrett et al. 2004) (Good, Lawrence et al. 2003).

The differences between these results could be, due to the mix of all kinds of TS karyotypes

(mosaic and non-mosaic, monosomy 45,X and others) which makes difficult the interpretation of the role of the intact X chromosome, and, for most of them, the small number of patients included. We select a large cohort of TS with homogenous monosomic karyotype 45,X to identify if there are different phenotype according to parental origin of X chromosome.

Patients and Methods

Patients

We selected all patients with a diagnosis of Turner's syndrome (based on karyotype analysis), who had been treated with GH between 1986 and 1997 in France ($n = 1518$), through a national register of GH-treated patients. Some patients already participated in StaTur study (Carel, Ecosse et al. 2005) (Carel, Elie et al. 2006) (Soriano-Guillen, Coste et al. 2005) (Devernay, Ecosse et al. 2009). Patients were considered eligible to participate in the StaTur-X study, if they met the following inclusion criteria:

- 1) peripheral blood karyotype consisted of a monosomic karyotype 45,X at diagnosis.
- 2) over the age of 18 years on October 31, 2007.

556 women were selected (Fig.1).

Patients received a survey and DNA sample kits for them and their mother. They received by mail an envelope for their mother containing an informed consent and a buccal swab. For themselves, they received a questionnaire, an informed consent, and two empty blood tubes (5 ml lithium heparinate for FISH (Fluorescent In Situ Hybridization) and 9 ml EDTA for X chromosome microsatellites analysis with a prescription.

A total of 230 (49%) responded (participants); the remaining 239 did not answer, despite several contacts (non-participants). The address of 78 patients were not found, 6 patients died, and for 3 of them there was no biological parent available.

Because of the potential ethical problem and experimental bias of nonpaternity, paternal saliva sample was avoided, except for 4 patients for whom the mother was not available.

The study was approved by the INSERM CQI (Comité de Qualification Institutionnel de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale), the CCTIRS (Comité Consultatif

sur le Traitement de l'Information en matière de Recherche dans le domaine de la Santé) and the CNIL (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés).

Data collected

Data relating to karyotype, features associated with Turner syndrome, growth, treatments were collected throughout childhood and adolescence (Carel, Ecosse et al. 2002; Soriano-Guillen, Coste et al. 2005).

The survey sent in 2007 to Statur-X cohort dealt with sociodemographic characteristics and current health status (current or past morbidities, medication, biological and medical follow-up), gynaecological status and quality-of-life components. It included the Coopersmith's Self-Esteem Inventory (SEI) (Coopersmith 1981), the Social Adjustment Scale Self-Report (SAS-SR) (Weissman and Bothwell 1976), and the General Health Questionnaire 12 (GHQ-12) (Goldberg 1972), a measure of psychological distress. Some questions were similar between the survey sent in 2001 (StaTur study (Carel, Ecosse et al. 2005) (Carel, Elie et al. 2006) (Soriano-Guillen, Coste et al. 2005) (Devernay, Ecosse et al. 2009)) and the survey sent in 2007.

Genotyping of microsatellites

We obtained DNA samples from peripheral blood lymphocytes of study subjects with TS and from saliva of their mother. For few mothers the quantity of DNA extracted from the saliva was not sufficient and a peripheral blood sample was secondary asked.

DNA was extracted from saliva using the QIAGEN-EZ1 DNA Tissue kit, and from blood using QIAGEN-QIAamp DNA Blood Maxi kit.

PCR conditions were optimized for 9 highly polymorphic microsatellites markers distributed along the entire length of X chromosome : DXS1223, DXS1039, DXS8045, DXS7108, DXS 1196, DXS 1062, DXS 8077, DXS 8064, DXS 1216 (Applied Biosystems ABI PRISM® Linkage

Mapping sets v2.5). These microsatellites have been chosen because they have a high degree of heterozygosity (mean : 68%) and their allele frequencies. The microsatellite DXS1062 was the more informative.

Subsequently, two or 3 PCR products generated from markers (from individual subject), were pooled and detected in one capillary electrophoresis in an ABI 3130 xl Genetic analyzer (Applied Biosystems; Foster City, CA), according to manufacturer's instructions. Results were analyzed with GeneMapper® software (Applied Biosystems; Foster City, CA) to determine the relative sizes of amplified fragments. Specifications regarding allele number were obtained through the Human Polymorphism Study Center web site (<http://www.cephb.fr/en/cephdb/browser.php>). Details on microsatellite-specific PCR may be found online published as supplemental data on The Endocrine Society's Journals Online web site at <http://jcem.endojournals.org>.

Parental origin assignment

The parental origin of the single X was determined by comparing proband and maternal DNA microsatellites amplified fragments.

Because no paternal blood was available, we required a discriminating power of less than 0.001 ($\text{allele frequency}_1 \times \text{allele frequency}_2 \times \text{allele frequency}_n$) to assign maternal origin of the X chromosome (mean of 7.1 microsatellites) except for 16 cases where the discriminating power was between 0.01 and 0.001, and less than 0.01 in the case of paternal X chromosome (mean of 6.6 microsatellites). The discrimination power allows estimation of the probability of false assignment of parental origin.

Exclusion of mosaicism

All the patients had karyotype performed at diagnosis (about twenty years ago for some). We have the details of these karyotypes for 130 patients, there was a mean of 21,53 cells studied with standard cytogenetic analysis (G banding).

To exclude of the study undetected blood mosaic karyotypes, all patients had fluorescence in situ hybridization (FISH) analysis using X centromeric probe : CEP X Spectrum Orange DNA probe kit (Vysis[®], Abbott, Abbott Park, IL) on 100 to 200 cells, 50 metaphases were analysed. FISH experiments were performed according to the manufacturer's instructions. The microsatellites analyses can also detect missed mosaic karyotype for monosomic 45,X Turner syndrome women (2 fragments for one microsatellite whereas one is expected).

Statistical analysis

The Student test was performed to examine possible relationships between gestational age, birth weight, birth height, adult height, adult weight, both parents' heights, MPH and the parental origin of the X chromosome. The frequencies of categorical variables, such as otological, ophtalmologic, cardiac, renal anomalies, hypertension, endocrine diseases : thyroid disease, lipid abnormalities, type 2 diabetes, celiac, liver diseases and the quality of life scales were compared between the Xp and Xm groups applying the x2 test or using Fisher's exact test (for small numbers). Correlation analysis was performed for patient's adult height and parents' heights in each group by calculation of Pearson's correlation coefficient.

Results:

Patients

X chromosome parental origin assignment

6 cases of previously unsuspected mosaicism (for more than ten percent of the cells) were detected by FISH analysis (3: 45,X/46,XX, 2: 45,X/46,XX/47,XXX, 1: 45,X/47,XXX). These subjects were excluded from the study because, for some of them, microsatellites analysis gave bi or triallelic patterns. For 10 patients, we could not conclude for parental origin because there was insufficient quantity of mother's DNA on the buccal swab and the mothers did not accept the blood sample. Parental origin of the X chromosome was so assigned in 185 patients. 30,8% women had paternal chromosome X (57/185) and 69,2% maternal (128/185).

Influence of the parental origin of the X chromosome on phenotypic data and on quality of life scales.

The X paternal group is shorter at birth than the X maternal group with a lower gestational age, but the height adjusted on gestational age is not different between the two groups.

There is no difference between X paternal and X maternal groups in birth weight, adult height, adult weight, parental height and midparental height (Table 2), nor in diseases such as otological involvements, ophthalmologic anomalies, cardiac involvements, renal anomalies, hypertension, thyroid diseases, coeliac diseases, lipid abnormalities, liver diseases, diabetes. No difference exist between the two groups concerning dysmorphic features such as face and neck abnormalities (short neck, pterygium coli, epicanthal fold, low hairline), thorax deformities (shield chest, widely spaced nipples), members anomalies (cubitus valgus, Bonnevie Ullrich syndrom, hyperconvex nails, short fourth metatarsus, short fourth metacarpus) and skin anomalies (multiple pigmented naevi, keloïd scars).

The quality of life was similar between the X paternal group compared to the X maternal group

concerning SEI scale, SAS-SR scale and GHQ-12 score (Table 3).

In all subjects, and in each ones of the X paternal group and X maternal group, patient's adult height correlates both with mother's and father's height (Table 4). However, in the X paternal group, patient height correlates weakly with father's height ($r=0.34$, $p=0.01$).

Discussion

This is the largest cohort of TS women with monosomic 45,X karyotype in which the parental origin of the X chromosome is correlated with detailed phenotypic features. Parental origin of the X chromosome was assigned in 185 patients. 30.8% women had paternal chromosome X (57/185) and 69.2% maternal (128/185). We found that the X paternal group is shorter at birth than the X maternal group with a lower gestational age, the height adjusted on gestational age is not different between the two groups.

There is no difference between X paternal and X maternal groups in birth weight, adult height, adult weight, parental heights and midparental height, nor in diseases such as otological involvements, ophthalmologic anomalies, cardiac involvements, renal anomalies, hypertension, thyroid diseases, coeliac diseases, lipid abnormalities, liver diseases, diabetes. No difference exists between the two groups concerning dysmorphic features. The quality of life was similar between the X paternal group and the X maternal group concerning SEI scale, SAS-SR scale and GHQ-12 score.

In all subjects, and in each one of the X paternal group and X maternal group, patient's adult height correlates both with mother's and father's height. However, in the X paternal group, patient height correlates weakly with father's height ($r=0.34$, $p=0.01$).

The distribution of the Xmat and Xpat among subjects with a 45,X karyotype was consistent with published findings (Jacobs, Betts et al. 1990) (Uematsu, Yorifuji et al. 2002) (Chu, Donaldson et al. 1994) (Hamelin, Anglin et al. 2006) (Kochi, Longui et al. 2007). Others studies have evaluated the relationships between parental X chromosome origin and phenotypic features in TS.

There was no difference in birth length ($n=28$), nor in birth weight ($n=49$) according to X parental

origin in a cohort of women with TS, with mixed or nonmosaic 45,X karyotypes (Hamelin, Anglin et al. 2006). In an other study of 33 patients with various karyotypes, differences in parental origin of the X chromosome did not influence birth weight nor gestational age (height not studied) (Ko, Kim et al. 2010).

Few studies show the correlations between TS adult height and parental height. Some studies found a correlation between Xm group height and the mother's height (Hamelin, Anglin et al. 2006) (Kochi, Longui et al. 2007) (Chu, Donaldson et al. 1994) (Ko, Kim et al. 2010). Bondy C.A. found a correlation between maternal adult height in both Xp and Xm groups (Bondy, Matura et al. 2007). No one found a correlation with paternal height but, the different TS karyotypes are mixed and the participant number is lower than ours.

How to explain the difference of mensurations (birth weight at the limit of significativity) and gestational age between Xp and Xm groups?

The placenta could be involved. It is known that, in mice, Xp is inactivated in placenta. In humans, some publications are in favor of preferential X paternal inactivation (Ropers, Wolff et al. 1978) (Harrison and Warburton 1986) (Harrison 1989) (Goto, Wright et al. 1997) (Uehara, Tamura et al. 2000) whereas more recent ones describe random inactivation (Moreira de Mello, de Araujo et al. 2010) (Migeon and Do 1978) (Migeon and Do 1979) (Mohandas, Passage et al. 1989) (Looijenga, Gillis et al. 1999) (Willemsen, Bontekoe et al. 2002).

Concerning embryo survival, it seems not existing difference between Turner embryos with Xp versus Xp; in 29 spontaneous abortion and 12 liveborn individuals most 45,X conceptus have a maternally derived X chromosome regardless of whether the conceptus is liveborn or spontaneously aborted (Hassold, Pettay et al. 1992). In this publication, by pooling data of others articles, among the liveborns TS 19 (23%) inherited a paternal X chromosome and 65 (77%) a maternal's one; among therapeutic abortions 2 (29%) have a paternal X chromosome and 5 (71%)

have a maternal's one, and among spontaneous abortions 8 (17%) inherited a paternal X chromosome and 39 (83%) a maternal's one.

However comparing Xp and Xm gene expression in placenta and in embryo could be interesting to better understand the phenotypical differences (Urbach and Benvenisty 2009).

Our study has several limitations that should be discussed. Although the rate of participation (49%) is high, four for patients the DNA came from the father with the possible (but rare) problem of nonpaternity. We did not exclude from our study the women with a rate of mosaicism under ten pourcent by FISH because it is the rate used in genetic laboratory.

Quality of life scales and some diseases data were obtained with a self-reported questionnaire, and we cannot exclude the possibility that some patients gave erroneous informations, however the diseases informations came also from the national basis which was made by physician.

Acknowledgments

We thank the patients and their parents, the StaTur investigators, and the clinicians involved in the follow-up of the patients included in the study, all listed in (Carel, Ecosse et al. 2005; Soriano-Guillen, Coste et al. 2005; Carel, Elie et al. 2006). We thank Lamia Kerdjana, Vean Eng Ly, Djamila Meguellati-Hakkas, Caroline Arnaud-Sarthou for their invaluable contributions.

The study was supported by a grant from the Wyeth Foundation. M.D. was supported by grants from Société Française d'Endocrinologie-Ipsen, Société Française d'Endocrinologie Diabétologie Pédiatrique-Pfizer and from Fondation pour la Recherche Médicale.

Fig. 1. Flow chart of patient enrollment

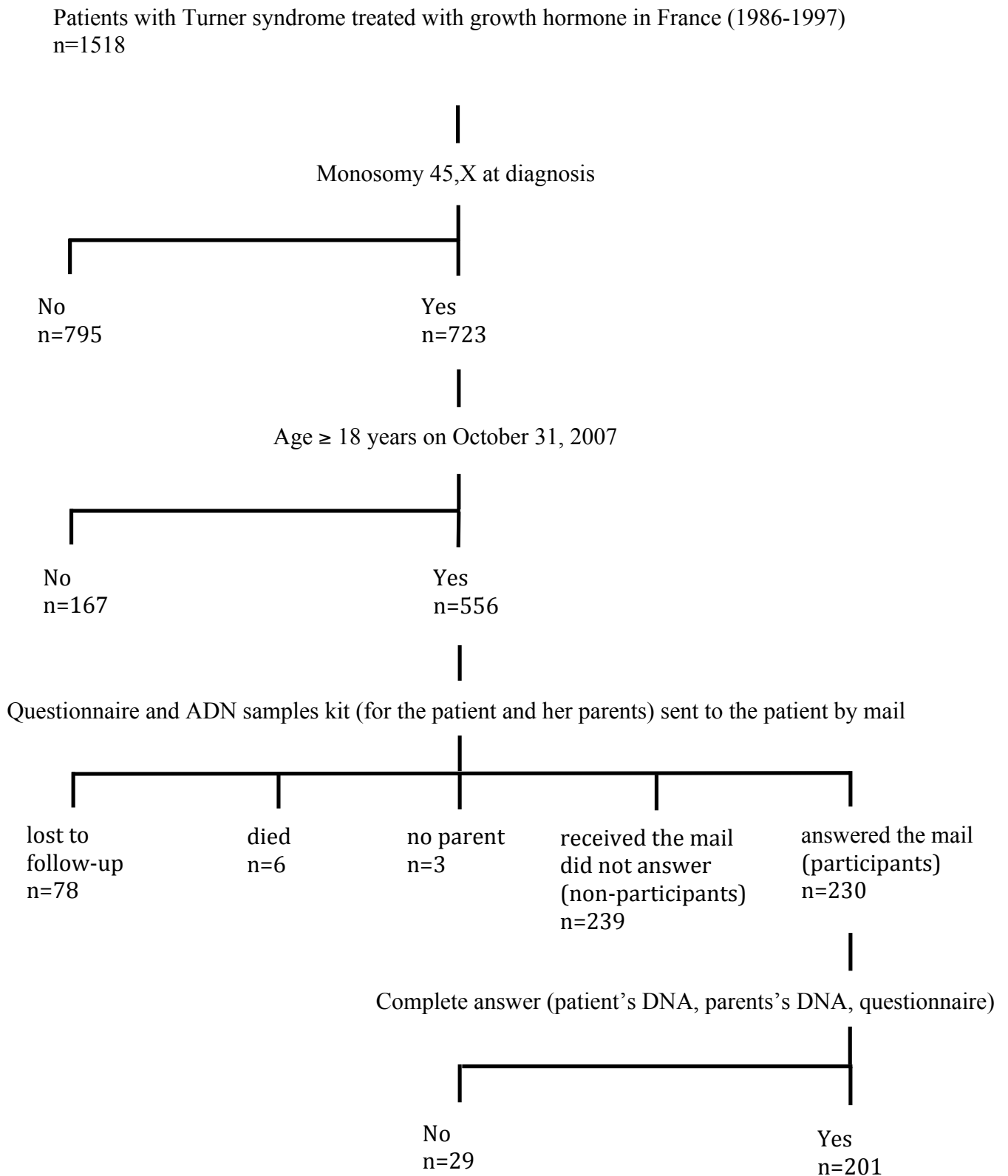


Fig 2 : Parental origin X chromosome

patient's DNA with 45,X monosomy (conventional karyotype)
mother's DNA
n=201

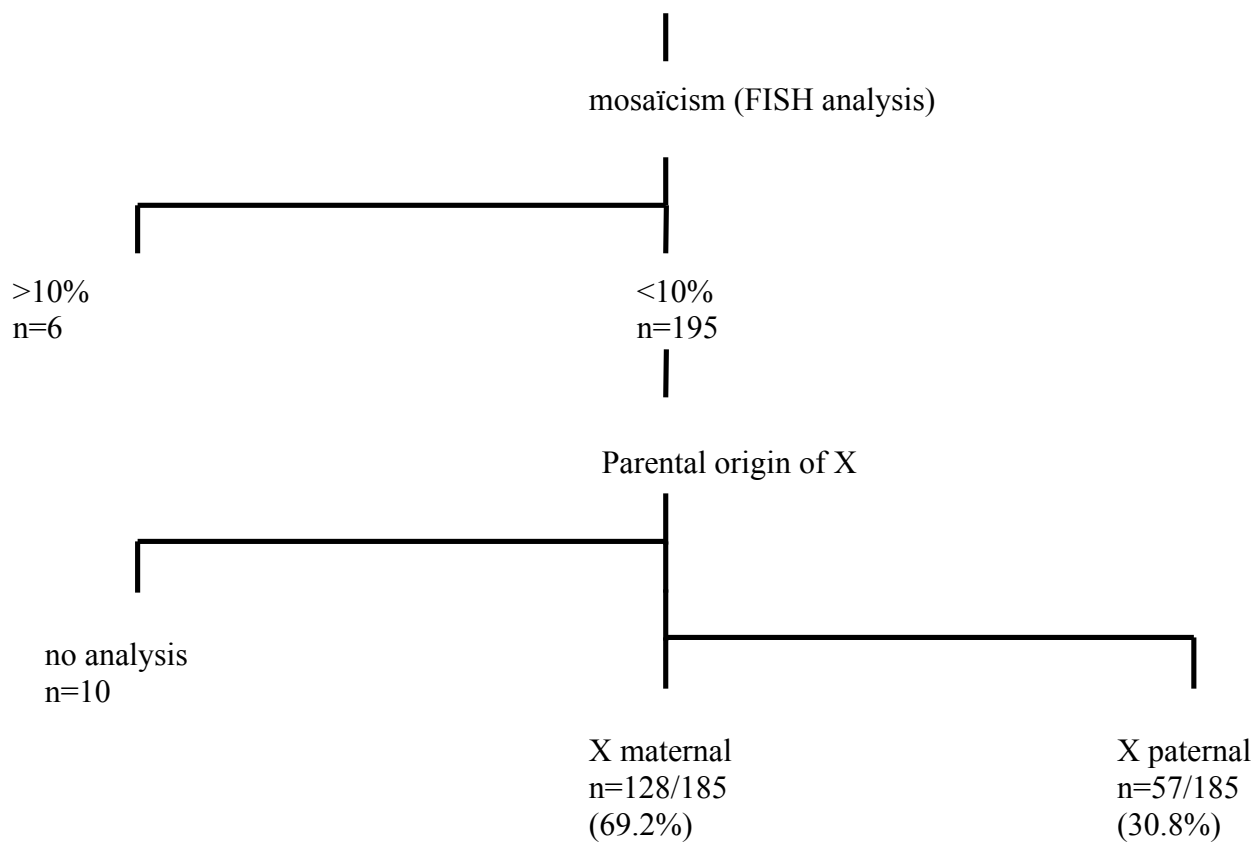


Table 1: Characteristics of studied patients

Age when the questionnaire was sent (yr), mean $\pm$ SD (range)	26.15 $\pm$ 4.18 (18.09–35.77)
Socioeconomic status (n=179)	
Alone	142 (79)
Live with a partner or PACS	25 (14)
Married	12 (7)
Divorced	0 (0)
Auxological data	
Adult height (cm) (n=180)	152.60 $\pm$ 5.73
Adult weight (kg) (n=180)	56.37 $\pm$ 11.40
Birth height (SDS) (n=161)	-2.03 $\pm$ 1.16
Birth weight (SDS) (n=161)	-1.04 $\pm$ 1.03
Birth height (cm) (n=172)	46.76 $\pm$ 2.59
Birth weight (g) (n=173)	2851.76 $\pm$ 502.30
Gestational age (n=165)	39.15 $\pm$ 1.67
Father's height (cm) (n=176)	174.35 $\pm$ 6.16
Mother's height (cm) (n=177)	161.11 $\pm$ 6.07
Father's height (SDS) (n=176)	-0.16 $\pm$ 1.03
Mother's height (SDS) (n=177)	-0.39 $\pm$ 1.08
Midparental height (SDS) (n=174)	-0.37 $\pm$ 0.87
Dysmorphic features	
Face and neck anomalies ^a (n=180)	99 (55)
Thorax deformities ^b (n=180)	84 (47)
Members anomalies ^c (n=180)	104 (58)
Skin anomalies ^d (n=180)	35 (19)
Diseases	
Otological involvement (n=174)	75 (43)
Ophthalmologic anomaly (n=178)	122 (68)
Cardiac involvement (n=180)	51 (28)
Renal anomaly (n=180)	47 (26)
Hypertension (n=180)	7 (4)
Thyroid disease (n=178)	53 (30)
Coeliac disease (n=180)	2 (1)
Lipid abnormalities (n=180)	20 (11)
Liver disease (n=180)	15 (8)
Type 2 diabetes (n=178)	1 (1)
SEI scale (n=180)	
Overall	68.51 $\pm$ 22.24
General	64.00 $\pm$ 23.64
Familial	78.66 $\pm$ 27.31
Work	74.65 $\pm$ 24.02
Social	66.85 $\pm$ 25.64

SAS-SR scale (n=180)	
Social. leisure	24.24±14.58
Family	11.13±11.75
Economic	7.21±18.62
Work	9.32±14.87
Partner	16.60±12.89
Overall	15.52±9.72

Results are shown as means ± SD or numbers (%). The sum of percentages may be not equal to 100% because of missing data.

^a Face and neck anomalies includes short neck. pterygium coli. epicanthal fold. low hairline

^b Thorax deformities includes shield chest. widely spaced nipples

^c Members anomalies includes cubitus valgus. short fourth metatarsus. short fourth metacarpus. bonnieville ullrich syndrom. hyperconvex nails

^d Skin anomalies includes multiple pigmented naevi. keloïd scars

Table 2. Phenotypic features according to parental origin of the X chromosome

Auxological data

	Xpat	Xmat	p
Adult height (cm)	152.05±6.14 (57)	152.85±5.53 (123)	0.40
Adult height (SDS)	2.39±1.21 (55)	2.54±1.08 (120)	0.43
Adult weight (kg)	57.71±12.51 (57)	55.85±10.86 (123)	0.41
Birth height (SDS)	-2.21±1.26 (52)	-1.94±1.11 (109)	0.19
Birth weight (SDS)	-1.15±1.11 (52)	-0.99±0.99 (109)	0.36
Birth height (cm)	46.10±3.06 (56)	47.08±2.28 (116)	0.036
Birth weight (g)	2749.55±534.63 (56)	2900.68±480.76 (117)	0.07
Gestational age	38.69±2.20 (53)	39.36±1.31 (113)	0.046
Father's height (cm)	174.02±6.64 (57)	174.51±5.94 (119)	0.63
Mother's height (cm)	160.98±6.26 (57)	161.18±6.00 (120)	0.85
Father's height (SDS)	-0.21±1.11 (57)	-0.13±0.99 (119)	0.64
Mother's height (SDS)	-0.41±1.12 (57)	-0.38± 1.07 (120)	0.85
Midparental height (SDS)	-0.41±0.94 (57)	-0.35±0.84 (117)	0.66

Dysmorphic features

	Xpat affected/total (%)	Xmat affected/total (%)	p
Face and neck anomalies ^a	31/57 (56)	68/123 (55)	≤0.9
Thorax deformities ^b	26/57 (46)	58/123 (47)	≤0.9
Members anomalies ^c	34/57 (60)	70/123 (57)	≤0.9
Skin anomalies ^d	10/57 (17)	25/123 (20)	≤0.9

^a Face and neck anomalies includes short neck. pterygium coli. epicanthal fold. low hairline

^b Thorax deformities includes shield chest. widely spaced nipples

^c Members anomalies includes cubitus valgus. short fourth metatarsus. short fourth metacarpus. bonnevillier syndrome. hyperconvex nails

^d Skin anomalies includes multiple pigmented naevi. keloid scars

Diseases

	Xpat affected/total (%)	Xmat affected/total (%)	p
Otological involvement	21/55 (38)	54/119 (45)	≤0.5
Ophthalmologic anomaly	38/56 (68)	84/122 (69)	≤0.9
Cardiac involvement	16/57 (28)	35/123 (28)	≤0.9
Renal anomaly	19/57 (33)	28/123 (23)	≤0.2
Hypertension	2/57 (4)	5/123 (4)	≤0.9
Thyroid disease	12/56 (21)	41/123 (33)	≤0.1
Coeliac disease	0/57 (0)	2/123 (2)	≤0.5
Lipid abnormalities	6/57 (11)	14/123 (11)	≤0.9
Liver disease	4/57 (7)	11/123 (9)	≤0.9
Type 2 diabetes	1/55 (2)	0/123 (0)	≤0.2

Table 3: Quality of life data of participating subjects according to parental origin of the X chromosome

	Xpat	Xmat	p
SEI scale			
Overall	69.48±21.61 (57)	68.05±22.61 (123)	0.68
General	64.79±22.56 (57)	63.63±24.22 (123)	0.75
Familial	80.17±26.90 (57)	77.95±27.59 (123)	0.61
Work	76.08±22.74 (57)	73.98±24.67 (123)	0.57
Social	67.46±25.43 (57)	66.57±25.83 (123)	0.83
SAS-SR scale			
Social. leisure	22.19±10.80 (57)	25.22±11.30 (123)	0.21
Family	13.30±16.34 (57)	10.12±8.78 (123)	0.18
Economic	8.65±22.62 (57)	6.49±16.34 (123)	0.54
Work	8.95±15.70 (57)	9.50±14.52 (123)	0.82
Partner	17.49±15.44 (57)	16.17±11.68 (123)	0.76
Overall	15.15±10.78 (57)	15.69±9.21 (123)	0.74
GHQ-12 score ≥ 3			
	OR	p	
no	OR Xp/Xm:0.93	≤0.9	
yes	OR Xp/Xm:0.64	≤0.9	

Table 4. Correlation between patient's adult height and parent's auxological data

Patient's adult height correlation with

	All	Xpat	Xmat
Maternal height	r=0.40 p<0.0001 (n=173)	r=0.43 p=0.0009 (n=56)	r=0.38 p<0.0001 (n=117)
Paternal height	r=0.38 p<0.0001 (n=172)	r=0.34 p=0.01 (n=56)	r=0.40 p<0.0001 (n=116)

Supplementary data

Microsatellite-specific PCR conditions:

PCR conditions were optimized for 9 highly polymorphic microsatellites markers distributed along the X chromosome : DXS1223. DXS1039. DXS8045. DXS7108. DXS 1196. DXS 1062. DXS 8077. DXS 8064. DXS 1216 (Applied Biosystems ABI PRISM® Linkage Mapping sets v2.5). The markers were labeled with fluorescent dye.

Locus	heterozygosity	Assay size range	Dye label
DXS1223	0.77	139-161	FAM
DXS1039	0.56	177-201	FAM
DXS8045	0.54	215-227	FAM
DXS7108	0.74	236-258	FAM
DXS1196	0.79	212-232	VIC
DXS1062	0.75	89-115	NED
DXS8077	0.72	179-199	NED
DXS8064	0.6	214-230	NED
DXS1216	0.68	242-256	NED

PCR assays were optimized for the annealing temperature. 2 primers work better with a change of enzyme.

1) Taq DNA polymerase (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO).

- DXS1223. DXS1196. DXS8077. DXS8064. DXS1216:

Polymerase chain reaction amplifications were performed in a 25 µl reaction mixture

containing 30 ng DNA template. 10 μ M of each primer. 5 mM dNTP. 2.5 μ l of 10 $\times$ reaction buffer (including MgCl_2) and 0.5 U Taq DNA polymerase (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO).

All amplification reactions were performed in 'mastercycler Eppendorf'.

After an initial denaturation step of 5 min at 95°C. the samples were processed through 35 cycles consisting of 30 s at 95°C. 30 s at the annealing temperature 55°. and 30 s at 72°C. followed by a terminal elongation step of 10 min at 72°C.

- DXS8045. DXS1062: These two primers need lower annealing temperature at 52°.

2) Ampli Taq Gold® DNA polymerase (Applied Biosystems)

- DXS1039. DXS7108

Polymerase chain reaction amplifications were performed in a 25 μ l reaction mixture containing 30 ng DNA template. 10 μ M of each primer. 5 mM dNTP. 2.5 μ l of 10 $\times$ reaction buffer. MgCl_2 25 mM: 2.5 μ l and 0.5 U Ampli Taq Gold® DNA polymerase (Applied Biosystems)

After an initial denaturation step of 10 min at 95°C. the samples were processed through 35 cycles consisting of 30 s at 95°C. 30 s at the annealing temperature 50°. and 30 s at 72°C. followed by a terminal elongation step of 10 min at 72°C.

References

1. **Davies W. Isles A. Smith R. Karunadasa D. Burrmann D. Humby T. Ojarikre O. Biggin C. Skuse D. Burgoyne P. Wilkinson L** 2005 Xlr3b is a new imprinted candidate for X-linked parent-of-origin effects on cognitive function in mice. *Nat Genet* 37:625-629
2. **Raefski AS. O'Neill MJ** 2005 Identification of a cluster of X-linked imprinted genes in mice. *Nat Genet* 37:620-624
3. **Skuse DH. James RS. Bishop DV. Coppin B. Dalton P. Aamodt-Leeper G. Bacarese-Hamilton M. Creswell C. McGurk R. Jacobs PA** 1997 Evidence from Turner's syndrome of an imprinted X-linked locus affecting cognitive function. *Nature* 387:705-708
4. **Ergur AT. Ocal G. Berberoglu M. Tekin M. Kilic BG. Aycan Z. Kutlu A. Adiyaman P. Siklar Z. Akar N. Sahin A. Akcayoz D** 2008 Paternal X could relate to arithmetic function; study of cognitive function and parental origin of X chromosome in Turner syndrome. *Pediatr Int* 50:172-174
5. **Cutter WJ. Daly EM. Robertson DM. Chitnis XA. van Amelsvoort TA. Simmons A. Ng VW. Williams BS. Shaw P. Conway GS. Skuse DH. Collier DA. Craig M. Murphy DG** 2006 Influence of X chromosome and hormones on human brain development: a magnetic resonance imaging and proton magnetic resonance spectroscopy study of Turner syndrome. *Biol Psychiatry* 59:273-283
6. **Kesler SR. Garrett A. Bender B. Yankowitz J. Zeng SM. Reiss AL** 2004 Amygdala and hippocampal volumes in Turner syndrome: a high-resolution MRI study of X-monosomy. *Neuropsychologia* 42:1971-1978
7. **Chu CE. Donaldson MD. Kelnar CJ. Smail PJ. Greene SA. Paterson WF. Connor JM** 1994 Possible role of imprinting in the Turner phenotype. *J Med Genet* 31:840-842
8. **Ko JM. Kim JM. Kim GH. Lee BH. Yoo HW** 2010 Influence of parental origin of the X chromosome on physical phenotypes and GH responsiveness of patients with Turner syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 73:66-71
9. **Kochi C. Longui CA. Lemos-Marini SH. Guerra-Junior G. Melo MB. Calliari LE. Monte O** 2007 The influence of parental origin of X chromosome genes on the stature of patients with 45 X Turner syndrome. *Genet Mol Res* 6:1-7
10. **Hamelin CE. Anglin G. Quigley CA. Deal CL** 2006 Genomic imprinting in Turner syndrome: effects on response to growth hormone and on risk of sensorineural hearing loss. *J Clin Endocrinol Metab* 91:3002-3010
11. **Sagi L. Zuckerman-Levin N. Gawlik A. Ghizzoni L. Buyukgebiz A. Rakover Y. Bistrizter T. Admoni O. Vottero A. Baruch O. Fares F. Malecka-Tendera E. Hochberg Z** 2007 Clinical significance of the parental origin of the X chromosome in turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 92:846-852
12. **Bondy CA. Matura LA. Wooten N. Troendle J. Zinn AR. Bakalov VK** 2007 The physical phenotype of girls and women with Turner syndrome is not X-imprinted. *Hum Genet* 121:469-474
13. **Good CD. Lawrence K. Thomas NS. Price CJ. Ashburner J. Friston KJ. Frackowiak RS. Orelan L. Skuse DH** 2003 Dosage-sensitive X-linked locus influences the development of amygdala and orbitofrontal cortex. and fear recognition in humans. *Brain* 126:2431-2446
14. **Carel JC. Ecosse E. Bastie-Sigeac I. Cabrol S. Tauber M. Leger J. Nicolino M. Brauner R. Chaussain JL. Coste J** 2005 Quality of life determinants in young women

- with turner's syndrome after growth hormone treatment: results of the StaTur population-based cohort study. *J Clin Endocrinol Metab* 90:1992-1997
15. **Carel JC. Elie C. Ecosse E. Tauber M. Leger J. Cabrol S. Nicolino M. Brauner R. Chaussain JL. Coste J** 2006 Self-esteem and social adjustment in young women with Turner syndrome--influence of pubertal management and sexuality: population-based cohort study. *J Clin Endocrinol Metab* 91:2972-2979
 16. **Soriano-Guillen L. Coste J. Ecosse E. Leger J. Tauber M. Cabrol S. Nicolino M. Brauner R. Chaussain JL. Carel JC** 2005 Adult height and pubertal growth in Turner syndrome after treatment with recombinant growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 90:5197-5204
 17. **Devernay M. Ecosse E. Coste J. Carel JC** 2009 Determinants of medical care for young women with Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 94:3408-3413
 18. **Carel JC. Ecosse E. Nicolino M. Tauber M. Leger J. Cabrol S. Bastie-Sigeac I. Chaussain JL. Coste J** 2002 Adult height after long term treatment with recombinant growth hormone for idiopathic isolated growth hormone deficiency: observational follow up study of the French population based registry. *BMJ* 325:70
 19. **Coopersmith S** 1981 *SEI (Self-Esteem Inventories)*. Palo Alto. CA: Consulting Psychologists Press
 20. **Weissman MM. Bothwell S** 1976 Assessment of social adjustment by patient self-report. *Arch Gen Psychiatry* 33:1111-1115
 21. **Goldberg D** 1972 *The detection of psychiatric illness by questionnaire*. London: Oxford University Press
 22. **Jacobs PA. Betts PR. Cockwell AE. Crolla JA. Mackenzie MJ. Robinson DO. Youngs SA** 1990 A cytogenetic and molecular reappraisal of a series of patients with Turner's syndrome. *Ann Hum Genet* 54 (Pt 3):209-223
 23. **Moreira de Mello JC. de Araujo ES. Stabellini R. Fraga AM. de Souza JE. Sumita DR. Camargo AA. Pereira LV** 2010 Random X inactivation and extensive mosaicism in human placenta revealed by analysis of allele-specific gene expression along the X chromosome. *PLoS One* 5:e10947
 24. **Goto T. Wright E. Monk M** 1997 Paternal X-chromosome inactivation in human trophoblastic cells. *Mol Hum Reprod* 3:77-80
 25. **Migeon BR. Do TT** 1978 In search of nonrandom X inactivation: studies of the placenta from newborns heterozygous for glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Basic Life Sci* 12:379-391
 26. **Ropers HH. Wolff G. Hitzeroth HW** 1978 Preferential X inactivation in human placenta membranes: is the paternal X inactive in early embryonic development of female mammals? *Hum Genet* 43:265-273
 27. **Harrison KB. Warburton D** 1986 Preferential X-chromosome activity in human female placental tissues. *Cytogenet Cell Genet* 41:163-168
 28. **Harrison KB** 1989 X-chromosome inactivation in the human cytotrophoblast. *Cytogenet Cell Genet* 52:37-41
 29. **Migeon BR. Do TT** 1979 In search of non-random X inactivation: studies of fetal membranes heterozygous for glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Am J Hum Genet* 31:581-585
 30. **Mohandas TK. Passage MB. Williams JW. 3rd. Sparkes RS. Yen PH. Shapiro LJ** 1989 X-chromosome inactivation in cultured cells from human chorionic villi. *Somat Cell Mol Genet* 15:131-136
 31. **Zeng SM. Yankowitz J** 2003 X-inactivation patterns in human embryonic and extra-embryonic tissues. *Placenta* 24:270-275

32. **Looijenga LH. Gillis AJ. Verkerk AJ. van Putten WL. Oosterhuis JW** 1999 Heterogeneous X inactivation in trophoblastic cells of human full-term female placentas. *Am J Hum Genet* 64:1445-1452
33. **Willemsen R. Bontekoe CJ. Severijnen LA. Oostra BA** 2002 Timing of the absence of FMR1 expression in full mutation chorionic villi. *Hum Genet* 110:601-605
34. **Hassold T. Pettay D. Robinson A. Uchida I** 1992 Molecular studies of parental origin and mosaicism in 45.X conceptuses. *Hum Genet* 89:647-652
35. **Urbach A. Benvenisty N** 2009 Studying early lethality of 45.XO (Turner's syndrome) embryos using human embryonic stem cells. *PLoS One* 4:e4175

2.3 Matériel et méthode

Au cours de ces 4 années de thèse de sciences, j'ai travaillé sur la thématique du syndrome de Turner à partir d'une cohorte nationale à laquelle mon directeur de thèse a accès. Pour l'article 2, j'ai, avec les conseils de mon directeur de thèse et la contribution de l'équipe, organisé et mis sur pied l'étude : sélection de la cohorte, recherche des coordonnées des patientes, rédaction des documents, obtention des accords éthiques, collecte des données, relances, analyse cytogénétique et des microsatellites, analyses statistiques. J'ai travaillé avec le Docteur Bénédicte Gérard, dans le laboratoire de génétique moléculaire et de biochimie du Professeur Jacques Elion (pour déterminer l'origine parentale du chromosome X). J'ai recherché les mosaïcismes cellulaires dans le laboratoire de cytogénétique du Professeur Brigitte Benzacken. Ce travail a été effectué en lien avec le Centre de Référence des Maladies Rares de la Croissance de l'hôpital. L'équipe de statisticiens de l'hôpital Cochin (Emmanuel Ecosse et Joël Coste) a participé.

2.3.1- Mise en place de l'étude

Pour l'étude Statur-X, nous disposons au début du travail du fichier avec les noms et coordonnées des patientes.

Les différentes étapes ont donc été les suivantes :

- 1- **Sélection** de la cohorte à partir de la base France-Hypophyse
- 2- Une remise à jour des **coordonnées** des patientes via les services de la poste 'OPTIMIS' qui permettent de retrouver les adresses des personnes ayant déménagé durant les 5 dernières années et via internet.
- 3- Renseignements quant aux **accords légaux** nécessaires, rédaction des différentes demandes. Les accords légaux ont été obtenus :
 - 02/04/07 : Comité de qualification institutionnel de l'Inserm (remplaçant le CPP)
 - 01/06/07 : CCTIRS (Comité consultatif sur le traitement de l'information en matière de recherche dans le domaine de la santé) (référence n° 643/BB/PA/2007-080)
 - 13/09/07 : CNIL (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés) (référence n° 907140)
- 4- Rédactions des **différents documents** destinés aux patientes et à leur mère visant à proposer l'étude de façon claire et facile à réaliser. Nous avons fait appel à un professionnel pour la mise en page des documents.

Nous avons mis en place un système permettant de respecter l'anonymat concernant les prélèvements biologiques et les questionnaires. Nous avons informé les patientes et leur mère qu'elles seraient tenues au courant des résultats globaux de l'étude, mais que nous ne leur communiquerions pas l'origine parentale de leur chromosome X.

5- Les envois ont été effectués aux femmes majeures ayant un syndrome de Turner et comprenaient :

- une enveloppe pour leur mère contenant :
 - un mode d'emploi
 - une lettre d'informations sur l'étude
 - deux exemplaires d'un formulaire de consentement éclairé pour une étude génétique (un à conserver et un à renvoyer)
 - un écouvillon buccal pour effectuer un recueil d'ADN buccal

- une enveloppe 'T' pour renvoyer les éléments
- une enveloppe pour elles-mêmes contenant :
 - un mode d'emploi
 - une lettre d'informations sur l'étude
 - un questionnaire
 - deux exemplaires d'un formulaire de consentement éclairé pour une étude génétique (un à conserver et un à renvoyer)
 - 2 tubes pour effectuer un prélèvement sanguin avec l'ordonnance jointe (1 de 5 ml d'héparinate de lithium pour effectuer l'étude par FISH (Hybridation in situ fluorescente) du centromère du chromosome X et 1 tube EDTA de 9 ml en vue d'une extraction d'ADN pour étudier les microsatellites du chromosome X).
 - une boîte en carton 'T' pour renvoyer (envoi effectué par la laboratoire préleveur) les tubes de sang mis dans des cylindres en plastique et le consentement.
 - une enveloppe 'T' pour le retour du questionnaire

Ces documents sont joints en [Annexe 4](#).

6- Les relances postales et téléphoniques ont été jusqu'au nombre de 5.

2.3.2 Génétique

2.3.2.1 Obtention de l'ADN

2.3.2.1.a Extraction d'ADN

Nous avons obtenu de l'ADN à partir des lymphocytes provenant du prélèvement de sang périphérique pour les filles et à partir des écouvillons buccaux pour les mères Catch All™ SAMPLE SWABS (tebu-bio). L'ADN a été extrait à partir du sang total en utilisant le QIAGEN-QIAamp DNA Blood Maxi kit et a été extrait des écouvillons buccaux en utilisant le kit QIAGEN-EZ1 DNA Tissue kit. Ces extractions ont été effectuées par le laboratoire de génétique moléculaire et de biochimie du Professeur Jacques Elion.

Extraction d'ADN à partir de sang total :

A partir du sang total d'un patient, l'extraction d'ADN a été effectuée via le kit QIAGEN-QIAamp DNA Blood Maxi kit.

Principe :

Lyse : Une lyse cellulaire est réalisée en présence de Protéinase K (500 µl) de chlorure de guanidium et de détergeant à 70 °C (tampon AL). Les cellules, dont les leucocytes, et toutes les protéines du sang sont lysées.

Extraction : Le tampon AL présent dans le lysat et l'ajout d'éthanol définissent également des conditions adéquates pour la fixation de l'ADN à la fibre de verre spécialement préconditionnée dans une maxi colonne à centrifuger. Le passage du lysat dans la colonne se fait par centrifugation de la colonne.

Lavages : L'ADN lié à la fibre de verre est purifié par une série de lavages rapides par centrifugations à l'aide de tampons de lavages contenant de l'éthanol (70%). Ces tampons, parce qu'ils contiennent de l'éthanol, ne décrochent pas l'ADN de la colonne.

Elution : Un tampon d'élution permet de récupérer l'ADN qui est ensuite précipité dans l'éthanol 70% en présence de 0,1M d'acétate de sodium pH 5,2. On obtient de l'ADN purifié précipité sous forme de «méduse». Par centrifugation, un culot est obtenu et est lavé à l'éthanol 70% puis séché. Le culot sec est alors resuspendu dans de l'eau et l'ADN en solution est quantifié.

Écouvillons :

Concernant les écouvillons buccaux, pour une partie d'entre eux, les quantités d'ADN extraites étaient faibles (<10ng), nous avons donc pré-amplifié l'ADN avec le GenomiPhiTM V2 DNA amplification kit (Illustra).

2.3.2.1.b Pré-amplification de l'ADN

Une pré amplification de l'ADN par le GenomiPhiTM V2 DNA amplification kit (Illustra) a permis de produire des fragments d'ADN jusqu'à 10 kb. Cette technique se base sur l'hybridation non spécifique d'amorces de petite taille en présence de Phi 29 DNA polymérase. Elle permet d'amplifier l'ADN qui était en trop faible quantité (elle génère environ 5 µg d'ADN à partir de 10 ng natif).

Dans une plaque, à 10 ng d'ADN (2 µl), sont ajoutés 5 µl de Sample Buffer et 3 µl d'eau stérile dans chaque puits.

Le mix (mélange) de pré amplification a été préparé sous la hotte pour n+2 échantillons, consistant en un mélange de 9 µL de Réaction Buffer pour 1 µl d'enzyme mix (conservée dans la glace). Le mix doit être conservé dans le bloc réfrigérant avant la répartition.

Puis l'ADN est dénaturé à 95°C pendant 3 minutes. Après cette étape, les prélèvements sont tout de suite mis dans de la glace. Pendant que la température du bloc redescend à 30°C, 10 µl du mix de pré-amplification (qui a été préparé et conservé dans la glace) est rajouté dans chaque puits.

La plaque est remise dans le bloc PCR à 30°C pendant 1h30 puis à 65°C pendant 10 minutes. Enfin, faire une dilution de l'ADN pré amplifié au 1/10^{ème} en ajoutant 180 µl d'eau pour obtenir une concentration de l'ordre de 50 ng/µl. La plaque est ensuite conservée à -20°C. Pour contrôler si la pré-amplification a été correctement effectuée, on prépare un gel à 0,8% d'agarose. On dépose 4 µl de produit de pré-amplification dilué à côté d'un marqueur de taille de 100 pb Ladder et de 400 ng d'un ADN génomique. On laisse migrer 2 heures. La pré-amplification donne un 'smear' de haut poids moléculaire (5_10kb). Une mauvaise pré-amplification donne des fragments de bas poids moléculaires (<500pb).

2.3.2.2 Microsatellites

2.3.2.2.a Principe de la technique

Les marqueurs microsatellites sont de petites régions génomiques caractérisées par la répétition de motifs simples (mono à hexanucléotides). Les plus utilisés sont des répétitions de di-, tri-, ou tetra nucléotides (ex : (CA)_n). Leur structure génique les rend peu stables lors de la réplication, entraînant une très grande variabilité du nombre de répétitions (et donc de leur taille) dans la population générale. Ils constituent donc des marqueurs polymorphes et leur hétérozygotie est souvent importante. Les marqueurs microsatellites utilisés ont une localisation génétique connue. L'amplification d'un marqueur microsatellite par PCR se fait en utilisant des amorces spécifiques des régions non polymorphes encadrant la répétition nucléotidique. L'une des amorces est marquée par un fluorochrome et les produits PCR sont séparés selon leur taille par une migration électrophorétique très résolutive sur séquenceur à fluorescence. Le risque de néo-mutation d'une génération à l'autre est évalué <1%.

2.3.2.2.b Choix des microsatellites

Nous avons choisi 9 microsatellites répartis sur l'ensemble du chromosome X ([Annexe 5](#)) : DXS1223, DXS1039, DXS8045, DXS7108, DXS 1196, DXS 1062, DXS 8077, DXS

8064, DXS 1216 (Applied Biosystems ABI PRISM® Linkage Mapping sets v2.5). Ces microsatellites ont été sélectionnés pour leur taux d'hétérozygotie (moyenne 68%) et la fréquence de leurs allèles.

Nom des microsatellites	Numéros des couples d'amorces	Taux d'hétérozygotie	Intervalle de taille (pb)	Fluorochrome
DXS1223	PR1	0,77	139-161	bleu
DXS1039	PR2	0,56	177-201	bleu
DXS8045	PR3	0,54	215-227	bleu
DXS7108	PR4	0,74	236-258	bleu
DXS1196	PR5	0,79	212-232	vert
DXS1062	PR6	0,75	89-115	jaune
DXS8077	PR7	0,72	179-199	jaune
DXS8064	PR8	0,6	214-230	jaune
DXS1216	PR9	0,68	242-256	jaune

Des informations complémentaires concernant le nombre d'allèles et leur fréquence ont été obtenues sur le site Human Polymorphism Study Center web site (<http://www.cephb.fr/en/cephdb/browser.php>).

2.3.2.2.c PCR généralités

Le procédé s'effectue en une trentaine de cycles composés de trois étapes : dénaturation, hybridation, élongation ([Annexe 6](#)).

La mise au point de chaque PCR repose d'une part, sur les réactifs utilisés : type d'enzyme utilisée, concentration enzymatique, type d'amorce et concentration des amorces, concentration de MgCl₂, d'ADN et d'autre part, sur la température d'hybridation des amorces, le nombre de cycles et le temps d'élongation.

2.3.2.2.d Conditions de PCR

Les conditions de PCR (Polymerase Chain Reaction) ont été optimisées pour chaque couple d'amorces. Nous avons débuté avec la Taq DNA polymerase (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO), en faisant varier la température d'hybridation si besoin et la concentration en magnésium puis un changement d'enzyme a été effectué et nous avons utilisé la Ampli Taq Gold® DNA polymerase (Applied Biosystems) imposant un changement de programme de PCR avec une dénaturation plus longue de 10 minutes.

1) Taq DNA polymerase (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO).

Le mélange de la PCR contient dans 25 µl :

- ADN (10 ng/µl) : 3 µl
- Tampon Taq 10X (PCR buffer SIGMA) : 2,5 µl (inclut MgCl₂)
- dNTP (DésoxyNucléotides-TriPhosphates) 5 mM : 1 µl
- Amorces 10uM: 1 µl
- Taq DNA polymerase (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO) (5U/ul) : 0,1 µl
- eau stérile : 17,4 µl

Les réactions d'amplification ont été effectuées par Le thermocycleur 'mastercycler Eppendorf'.

DXS1223, DXS1196, DXS8077, DXS8064, DXS1216 :

Conditions de PCR :

- Dénaturation : 1 cycle de 5 min à 95°C
- Réplication : 35 cycles :
Dénaturation : 30 s à 95°C
Hybridation : 30 s à 55°C
Extension : 30s à 72°C
- Extension finale : 1 cycle de 10 min à 72°C

DXS8045, DXS1062 : Ces 2 couples d'amorce nécessitent une température d'hybridation plus faible à 52°.

2) Ampli Taq Gold® DNA polymerase (Applied Biosystems)

DXS1039, DXS7108

- Le mélange de la PCR contient dans 25 µl :

- ADN (10ng/µl) : 3 µl
- Tampon 10X (PCR Gold buffer) (pas de MgCl₂) : 2,5 µl
- MgCl₂ 25 mM : 2,5 µl
- dNTP (DésoxyNucléotides-TriPhosphates) 5 mM : 1µl
- Amorces 10uM : 1 µl
- Ampli Taq Gold® DNA polymerase (Applied Biosystems) (5U/µl) : 0,1 µl
- eau stérile : 14,9 µl

- Conditions de PCR :

- Dénaturation : 1 cycle de 10 min à 95°C
- Réplication : 35 cycles :
Dénaturation : 30 s à 95°C
Hybridation : 30 s à 50°C
Extension : 30 s à 72°C
- Extension finale : 1 cycle de 10 min à 72°C

Après les PCR, une électrophorèse de contrôle sur gel d'agarose à 2% a été effectuée pour s'assurer de la réussite de la réaction d'amplification selon le protocole (quantité de produit PCR déposé : 10 µl, quantité de bleu de dépôt (bromo phénol): 2 µl, marqueur de taille XIV (Boehringer): 2 µl, migration : 150 V pendant 20 min puis photographie).

2.3.2.2.e Analyse des fragments

Principe : Le séquenceur 3130xLS (Applied Biosystems; Foster City, CA) est un appareil permettant la séparation de fragments d'ADN fluorescents par migration dans un gel de polymère. Les molécules chargées sont captées par une électrode (anode) dans chaque capillaire puis migrent selon leur taille le long du capillaire dans un gel polymérisé (nommé POP ou polymère).

La quantité de produit injecté va donc être modulable en fonction des paramètres suivants : durée de l'injection, voltage appliqué et salinité du milieu (présence d'anions contaminants). En arrivant au niveau de la fenêtre de lecture, le fluorochrome présent sur les produits PCR est excité par un laser et le signal fluorescent émis est capté par une camera CCD.

Préparation des échantillons :

Il faut prendre une plaque 96 puits et un plan de plaque vierge sur lequel nous plaçons le nom de nos échantillons. Nous préparons un mélange marqueur de taille LIZ500 Applied Biosystems)/formamide avec un rapport de 0.3 dans 15 (soit 20 µl de marqueur de taille + 980 µl de formamide). Le marqueur de taille LIZ500 est choisi car le set de fluorophore utilise des fragments ayant les fluorochromes : Fam, Ned, Vic (matrice G5).

Dans la plaque 96 puits, nous mettons 18 µl de mélange marqueur de taille/formamide désionisée et 1 µl de produit PCR dilué.

Il faut dénaturer les échantillons en faisant bouillir la plaque 3 min à 95°C puis en la mettant immédiatement 3 min au congélateur.

Puis il faut mettre la plaque quelques secondes dans la centrifugeuse de façon à supprimer les bulles existantes dans les puits de la plaque. Ces bulles abîment les capillaires et diminuent leur durée de vie.

Alors que chaque couple d'amorce devait avoir une PCR propre (nous n'avons pas pu mélanger plusieurs couples d'amorce pour une même PCR), pour l'analyse des fragments, nous avons pu mélanger plusieurs couples d'amorces pour un même patient.

A partir de 9 plaques comportant des produits de PCR des 9 microsatellites pour un même patient, nous avons décidé de mélanger les couples d'amorces PR1, 3 et 5 dans une plaque, PR2, 4 et 6 dans une autre et les PR7, 8, 9 dans une troisième. Nous mettons alors 3 µl de produit de PCR dilué avec 16 µl de mélange marqueur de taille/formamide désionisée (volume total 19 µl). Même si les amorces d'une même couleur n'ont pas une taille identique, tous les couples d'amorces n'ont pas été mélangés ensemble pour que les pics soient bien différenciés.

Ensuite l'électrophorèse a eu lieu via le séquenceur ABI 3130xl Genetic analyzer (Applied Biosystems; Foster City, CA) (méthode d'analyse : 'microsatellite default', programme 'standard'. La taille des différents fragments amplifiés a été analysée grâce au logiciel GeneMapper® software (Applied Biosystems; Foster City, CA).

Quand les tracés étaient trop saturés ou pas assez, les produits de PCR pouvaient être plus ou moins dilués et le programme standard changé en programme faible ou fort.

Au début, 100 µl d'eau ont été rajoutés dans chaque puits de PCR. Cependant, lors de l'analyse sur le séquenceur, les signaux étaient trop faibles même lors de l'analyse en programme 'fort'. La dilution a donc été diminuée en ne rajoutant que 50 µl au lieu des 100 µl initialement.

2.3.2.3 Exclusion de mosaïcisme : FISH

Les patientes ont eu un caryotype au moment du diagnostic du syndrome de Turner (il y a 20 ans pour certaines); pour la majorité d'entre elles une vingtaine de noyaux en métaphase était étudié en cytogénétique standard. La coloration au Giemsa entraîne, après l'application d'un traitement approprié, l'apparition de bandes sombres et claires alternées sur les chromosomes : le «G-banding».

Comme nous l'avons vu précédemment, des mosaïques peuvent passer inaperçues, toutes les patientes ont donc eu une analyse par hybridation in situ fluorescente en utilisant une sonde centromérique du chromosome X : CEP X Spectrum Orange DNA probe kit (Vysis®, Abbott, Abbott Park, IL) sur 100 à 200 noyaux en interphase cellules à partir de culots lymphocytaires mis en culture.

Les analyses des marqueurs des microsatellites peuvent détecter certaines mosaïques caryotypiques passées inaperçues auparavant chez les femmes 45,X en montrant 2 fragments pour un même microsatellite (là où on attendait un).

Pour des raisons éthiques, il n'a pas été décidé de rechercher la présence de chromosome Y (nécessité de gonadectomie qui n'entre pas dans le cadre de notre étude) il n'a pas non plus été décidé de prélever un second tissu chez les femmes ayant un ST.

2.3.2.3.a Mise en culture du sang

Le sang total hépariné des patientes est mis dans des tubes permettant la culture des lymphocytes : les tubes Chromosome kit P[®] (contenant PHA phytohémagglutinine = mitogène des lymphocytes et antibiotiques) eux-mêmes placés dans une étuve à 37°C pendant 72 heures.

2.3.2.3.b Préparations chromosomiques sur lames

1- Les **divisions cellulaires sont bloquées** par ajout de colchicine (poison du fuseau mitotique). 100 µl de colchicine sont ajoutés dans chaque flacon de culture qui est ensuite remis 40 minutes dans l'étuve.

2- Ensuite les cellules sont éclatées par un **choc hypotonique** de façon à disperser légèrement les chromosomes.

Le choc hypotonique : nous centrifugeons les tubes 5 minutes à 1500 rpm puis nous aspirons le surnageant. Tout en vortexant, nous ajoutons 6 ml de solution de KCL à 2,5 g/l (goutte à goutte les 3 premiers ml puis le reste). Nous remettons les tubes à incuber à 37°C 20 minutes.

3- Les cellules sont par la suite **fixées** avant d'être étalées sur des lames.

Les tubes sont centrifugés 5 minutes à 1500 rpm. Il faut aspirer le surnageant. Nous ajoutons 9 ml de fixateur (composé de 30 ml de méthanol pour 10 ml d'acide acétique) dans chacun des tubes en vortexant en continu (goutte à goutte les 3 premiers ml puis le reste). Centrifuger les tubes 5 minutes à 1500 rpm. Aspirer le surnageant. Refaire 2 fois les étapes de la fixation.

4- **Étalement** sur des lames de verre refroidies :

Le taux d'humidité de la pièce d'étalement doit être entre 44 et 48% et la température entre 20 et 25°C. Ajouter 1 ml de fixateur dans chaque tube.

Déposer une goutte de la suspension cellulaire sur une lame inclinée sortie du réfrigérateur. Laisser sécher.

Observer cette lame au microscope en contraste de phase pour évaluer la concentration des cellules et la qualité de l'étalement. Etaler 3 lames par tube (soit 6 lames par patiente). Faire vieillir les lames en les plaçant 1h dans l'étuve à 65°C. Nous aliquotons les suspensions cellulaires en tube de type Eppendorf de 1,5 ml et les congelons à - 20°C.

2.3.2.3.c Hybridation in situ fluorescente

Le principe est de permettre l'hybridation spécifique d'une sonde fluorescente spécifique sur l'ADN des chromosomes en métaphase ou en interfase.

1- Préparation des lames et pré-traitement

Etaler sur une lame SuperFrost[®] dégraissée, plongée auparavant dans de l'eau distillée, 8 µl de culot; faire sécher. Mettre la lame sur la plaque chauffante à 90°C pendant 2 minutes. Plonger la lame dans des bains successifs de PBS 1X - PFA

(paraformaldéhyde) - PBS1X pendant 5 minutes chacun. Plonger la lame dans le bain d'HCl 0,01N pepsiné à 37°C pendant 8 minutes pour éliminer les débris cytoplasmiques. Plonger la lame dans PBS1X 2 minutes puis déshydrater la lame dans des bains d'alcool 70%, 85% et 100% successivement, pendant 2 minutes dans chaque, puis laisser sécher.

2- Hybridation (co-dénaturation)

Nous déposons 3 µl de sonde centromérique X sur la lame posée sur le thermocycleur Hybridizer® à 37°C, nous la recouvrons d'une lamelle. Coller la lamelle avec du Rubber Cement puis lancer le programme adapté (75°C pendant 5 minutes) pour co-dénaturer l'ADN (de la sonde et des chromosomes). Placer les lames dans une chambre d'hybridation à 37°C pendant au moins 2 heures.

3- Lavage des lames après FISH

L'objectif est d'éluier par l'action de la chaleur les fragments de sonde qui ne sont pas hybridés de façon spécifique sur l'ADN.

Humidifier la lame dans le 0,4 SCC-0,3% Tween 20 (20XSSC : 20 ml, Tween20 : 3 ml, eau distillée : 997 ml), afin de retirer la colle et la lamelle (délicatement). Plonger la lame dans le 0,4 SCC-0,3% Tween 20. Glisser une lamelle devant chaque lame. Placer l'ensemble lame et lamelle dans le thermocycleur Hybridizer® et lancer le programme de lavage (70°C pendant 2 minutes). Ensuite plonger la lame dans une solution de 2 SCC-0,1% Tween 20 (20XSSC : 100 ml, Tween 20 : 1 ml, eau distillée : 899 ml), afin d'enlever la lamelle. Sortir les lames de la solution.

Enfin, poser une lamelle avec 2 gouttes de DAPI reconstitué (4',6'-diamidino-2-phénylindole contre colorant de l'ADN) qui émet une fluorescence bleue brillante au niveau des noyaux en présence d'UV. On peut conserver la lame dans une boîte à +4°C à l'abri de la lumière ou la regarder immédiatement au microscope à épifluorescence.

4- La lecture des lames au microscope à fluorescence (Olympus BX60) se fait sur 100 à 200 noyaux en interphase, 50 cellules en métaphase sont visualisées. Les spots correspondent au centromère du chromosome X (1 si la cellule a 1 chromosome X ou 2 si la cellule en a 2). L'état mosaïque est traditionnellement défini par la présence d'une seconde population cellulaire représentant 10% du total des cellules comptées.

2.3.3- Résultats de génétique

2.3.3.1 Obtention de l'ADN

Pour 54 mères la quantité d'ADN extraite à partir des écouvillons buccaux était insuffisante (<10 ng/µl) : une amplification avec le GenomiPhi™ V2 DNA amplification kit (Illustra) a été faite, un deuxième voire un troisième écouvillon a été demandé puis, si la quantité restait insuffisante un prélèvement de sang a été demandé (9 ml sur tube EDTA). 15 prélèvements de sang maternel ont été obtenus sur 34 demandés.

Une patiente trouvait la prise de sang trop contraignante et a effectué un écouvillonnage buccal. Pour 4 patientes pour lesquelles la mère n'était pas disponible, le père a effectué un écouvillonnage buccal. Parfois nous avons eu à attendre que le prélèvement de la patiente soit effectué lors d'une prise de sang prévue dans le cadre de bilan pour une autre raison.

2.3.2.2 Microsatellites: comparaisons des taux d'hétérozygotie

Nom des microsatellites	Numéros des amorces	Taux d'hétérozygotie		
		donnés par Applied Biosystems	sur le site CEPH Human Polymorphism Study Center web site	chez les mères participant à Statur-X
DXS1223	PR1	0,77	0,729	0,627
DXS1039	PR2	0,56	0,757	0,514
DXS8045	PR3	0,54	0,540	0,514
DXS7108	PR4	0,74	0,784	0,654
DXS1196	PR5	0,79	0,784	0,666
DXS1062	PR6	0,75	0,861	0,718
DXS8077	PR7	0,72	0,784	0,654
DXS8064	PR8	0,6	0,622	0,554
DXS1216	PR9	0,68	0,730	0,635

Nous notons des différences modérées du taux d'hétérozygotie des microsatellites selon l'origine des données car les populations à l'origine de ces calculs sont différentes.

Nous avons calculé, comme cela avait été fait sur le site Human Polymorphism Study Center web site, pour chaque microsatellite la fréquence des différents fragments amplifiés ([Annexe 7](#)).

Au total le microsatellite correspondant à l'amorce PR6 est le plus informatif (plus grand pourcentage d'hétérozygotie dans notre cohorte : 71,8%) et la fréquence de ses différents fragments est faible (fréquence la plus importante à 27,4%). Le microsatellite correspondant à l'amorce PR3 est le moins informatif (plus faible pourcentage d'hétérozygotie dans notre cohorte : 51,4%) et la fréquence d'un de ses fragments est importante (fragment de taille : 221 paires de bases, fréquence : 59,6%).

2.3.2.3 Exclusion de mosaïcisme: FISH

Photo 1 : Image en FISH du centromère du chromosome X de 2 cellules en interphase, présence d'un cellule 45,XX et d'un cellule 45,X (fluorescence orange du centromère)

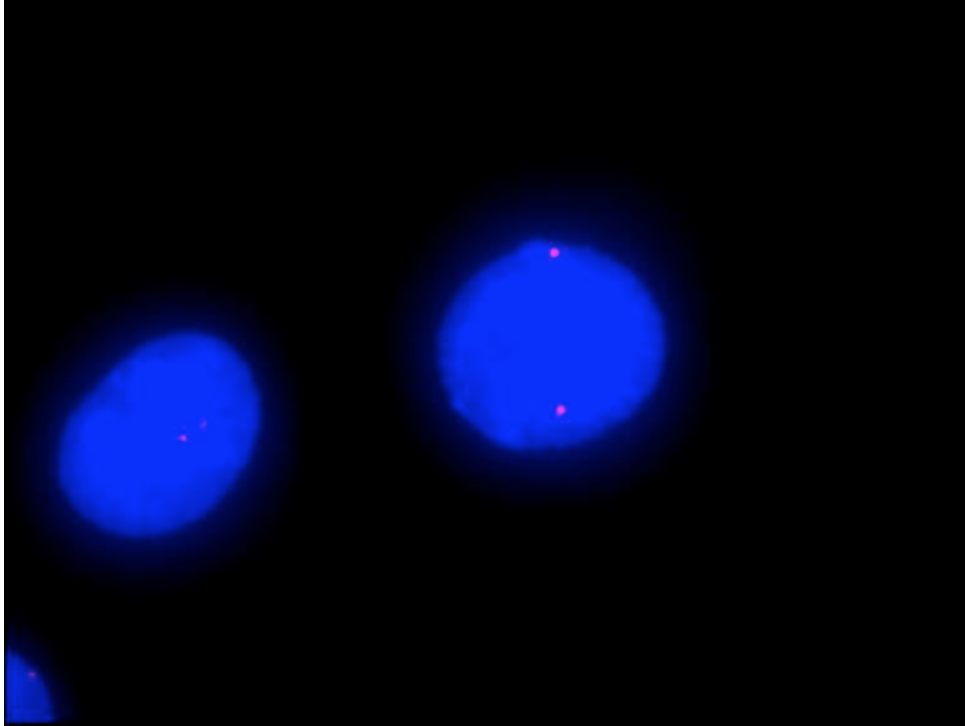
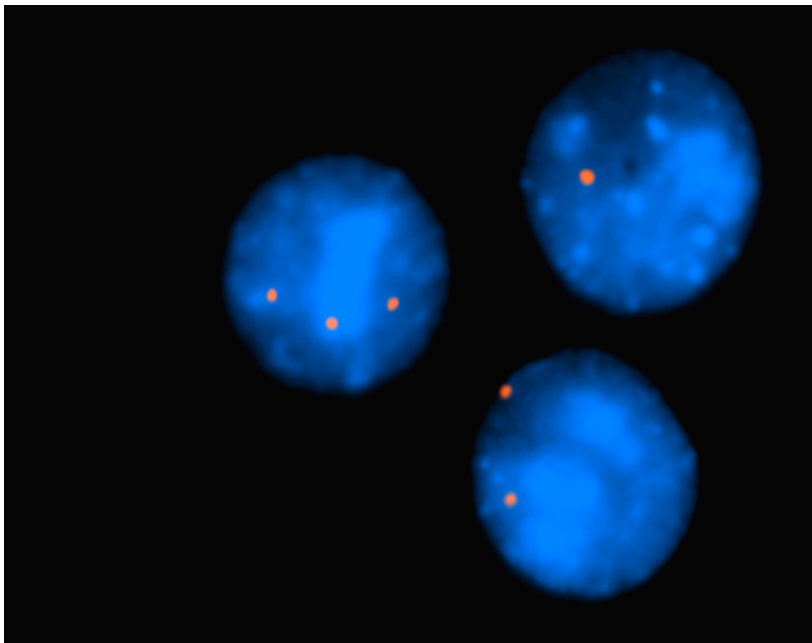


Photo 2 : Mosaïque 45,X/46,XX/47,XXX



Parmi les problèmes rencontrés, le délai entre la prise de sang et l'arrivée au laboratoire de cytogénétique était parfois trop long, avec une culture cellulaire difficile à effectuer. Nous avons donc demandé aux patientes d'effectuer leur prise de sang en début de semaine pour limiter le temps de transport. Pour 10 femmes, la culture cellulaire n'a pas permis d'obtenir assez de cellules pour conclure.

Graphique 3 : Résultats des analyses par FISH

Sur les 191 femmes restantes, l'étude par FISH du centromère du chromosome X a retrouvé que **6,8% (13/191) ont un caryotype mosaïque**. 3,1% (6/191) ont un taux de mosaïcisme cellulaire supérieur à 10%.

Nous avons regardé si les patientes ayant un mosaïcisme cellulaire par analyse FISH étaient hétérozygotes pour un ou plusieurs microsatellites. Nous remarquons que celle ayant le pourcentage de mosaïque 45,X/46,XX le plus élevé (32%) est hétérozygote pour un microsatellite et que les 3 qui contiennent les plus forts pourcentages de cellules triple X sont hétérozygotes pour un ou deux microsatellites. Les autres ont, pour la majorité d'entre elles, un pourcentage de cellules 46, XX par FISH trop faible pour qu'il soit visible sur le tracé.

Graphic 3 : Results of FISH analysis

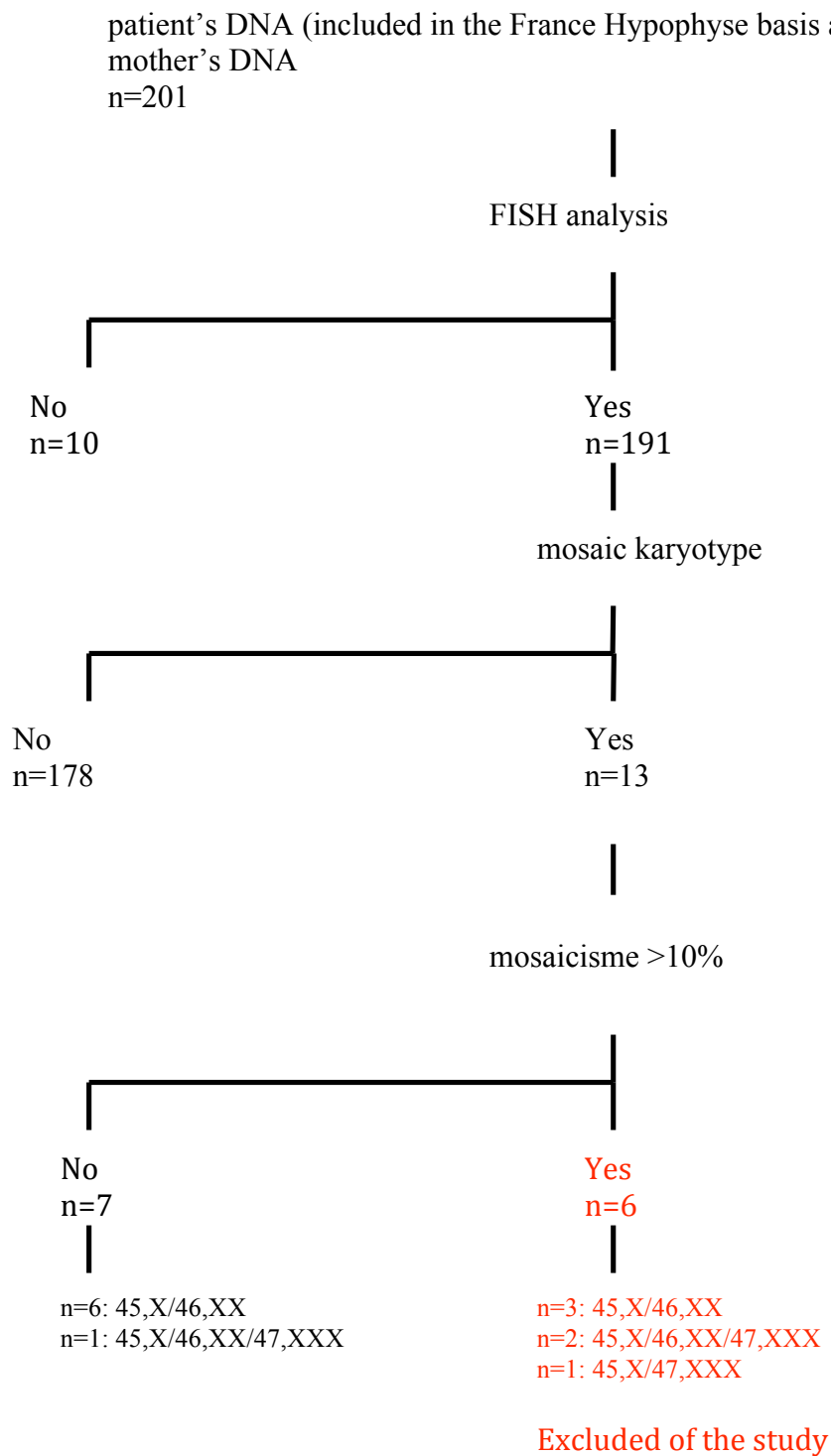


Tableau 7 : Pourcentage de mosaïcisme par FISH supérieur à 10% chez les femmes ayant un caryotype initial 45,X en cytogénétique conventionnelle

Nombre de cellules étudiées sur le caryotype initial	Résultats FISH	% mosaïque	Nombre de microsatellites hétérozygotes (avec des doubles pics)
NR	45,X/46,XX[32%]	32	1
15	45,X/46,XX[12%]	12	0
16	45,X/46,XX[16%]	16	0
43	45,X/46,XX[2%]/47,XXX[12%]	14	1
13	45,X/46,XX[2%]/47,XXX[10%]	12	0
63	45,X/47,XXX[19%]	19	2

NR : non renseigné

Nous avons exclu de l'étude ces 6 femmes ayant, de façon inattendue, un mosaïcisme supérieur à 10% avec un caryotype en cytogénétique conventionnelle 45,X.

Tableau 8 : Pourcentage de mosaïcisme par FISH inférieur à 10% chez les femmes ayant un caryotype initial 45,X en cytogénétique conventionnelle

Nombre de cellules étudiées sur le caryotype initial	Résultats FISH	% mosaïque	Nombre de microsatellites hétérozygotes (avec des doubles pics)
14	45,X/46,XX[3%]	3	1
NR	45,X/46,XX[6%]	6	0
17	45,X/46,XX[6%]	6	0
40	45,X/46,XX[5%]	5	0
NR	45,X/46,XX[4%]	4	0
49	45,X/46,XX[2%]	2	0
12	45,X/46,XX[4%]/47,XXX[3%]	7	1

Ces 7 patientes, avec un taux de mosaïcisme inférieur à 10% n'ont pas été exclues de l'étude.

2.3.2.4 Attribution de l'origine parentale

Annexe 8 : Exemple de tracé obtenu et comparaison de la taille des fragments des microsatellites.

Concernant les 201 couples complets, 191 ont été conclus (92%) concernant l'origine parentale (en incluant les mosaïques supérieures à 10%). 60 femmes sur 191 ont hérité du chromosome X paternel (31,4%) et 131 sur 191 du chromosome X maternel (68,6%). Il reste 16 couples non conclus pour 7 d'entre eux la quantité d'ADN maternel par écouvillonnage buccal était insuffisante (pour 1 : refus de la mère d'envoyer son sang et pour 5 : pas de réponse aux courriers demandant d'effectuer une prise de sang).

Concernant les 185 patientes ayant un caryotype 45,X en cytogénétique conventionnelle avec un mosaïcisme inférieur à 10% par FISH, 30,8% (57/185) ont hérité du chromosome X paternel, 69,2% (128/185) du chromosome X maternel.

2.4 Discussion

Notre cohorte nationale de 185 femmes de 26 ans en moyenne est la plus grande cohorte de patientes ayant un caryotype de type monosomie 45,X jamais réunie. La monosomie caryotypique sanguine a été vérifiée dans le sang pour les patientes sur 200 cellules. Le taux de réponse de 49% est considéré comme correct s'agissant d'une étude de cohorte basée sur la population nécessitant des prélèvements génétiques. Les taux de 69% pour les filles ayant un ST ont hérité du chromosome X maternel et 31% du chromosome X paternel correspondent aux taux connus. Notre cohorte nous a permis de conclure que le groupe ayant hérité du chromosome X paternel a, de façon significative, une plus petite taille de naissance et un âge gestationnel inférieur au groupe ayant hérité du chromosome X maternel. De plus, pour l'ensemble des patientes et pour chacun des sous groupes Xm et Xp, la taille adulte est corrélée à la taille maternelle et à la taille paternelle. Concernant la taille et le poids à l'âge adulte, les pathologies ORL, ophtalmologiques, rénales, thyroïdiennes, hépatiques, cardiaques, la maladie coeliaque, l'hypertension artérielle, les dyslipidémies, et le diabète, il n'y a pas de différence significative entre les groupes Xp et Xm. Il n'a pas non plus été retrouvé de différence en fonction de l'origine parentale du chromosome X au niveau des scores d'estime de soi, d'adaptation sociale et de dépression.

Ces données sont originales, jamais décrites; elles proviennent d'une population ayant le même caryotype assurant une meilleure fiabilité des corrélations caryotype/phénotype.

D- DISCUSSION

Le syndrome de Turner est la seule monosomie chromosomique viable. La plupart des grossesses se soldent par une fausse couche spontanée. Le syndrome de Turner, entraîne une morbidité et une mortalité augmentées et nécessite un suivi tout au long de la vie, y compris pendant la période charnière de la transition entre la médecine pédiatrique et adulte. L'insuffisance ovarienne et la petite taille nécessitent des traitements hormonaux (estro-progestatifs et hormone de croissance). Les corrélations phénotype/génotype peuvent orienter la décision difficile de poursuite de la grossesse, peuvent orienter la prise en charge clinique et la surveillance de cette pathologie complexe.

Notre cohorte nous a permis de conclure que le groupe ayant hérité du chromosome X paternel a, de façon significative, une plus petite taille de naissance et un âge gestationnel inférieur au groupe ayant hérité du chromosome X maternel. De plus, pour l'ensemble des patientes et pour chacun des sous groupes Xm et Xp, la taille adulte est corrélée à la taille maternelle et à la taille paternelle. Concernant la taille et le poids à l'âge adulte, les différentes pathologies liées au ST, il n'y a pas de différence significative entre les groupes Xp et Xm. Il n'a pas non plus été retrouvé de différence en fonction de l'origine parentale du chromosome X au niveau des scores de qualité de vie.

Concernant l'explication de cet âge gestationnel inférieur et ces plus petites mensurations de naissance (limite de la significativité pour le poids de naissance) dans le groupe Xp, nous pourrions évoquer le fait que des différences au niveau du placenta entre Xp et Xm soient en cause. En effet, nous savons que le chromosome Xp est inactivé dans le placenta de souris. Chez les humains, certaines publications sont en faveur d'une inactivation préférentielle de Xp (Ropers, Wolff et al. 1978) (Harrison and Warburton 1986) (Harrison 1989) (Goto, Wright et al. 1997) (Uehara, Tamura et al. 2000) tandis que d'autres, plus récentes décrivent une inactivation aléatoire du chromosome X dans le placenta (Moreira de Mello, de Araujo et al. 2010) (Migeon and Do 1978) (Migeon and Do 1979) (Mohandas, Passage et al. 1989) (Looijenga, Gillis et al. 1999) (Willemsen, Bontekoe et al. 2002).

Concernant la survie des embryons, il semble ne pas y avoir de différence entre les ST Xm et Xp. Dans une étude (Hassold, Pettay et al. 1992) concernant 29 avortements spontanés et 12 filles ayant un ST, la majorité ont hérité de Xm indépendamment de leur

statut vital à la naissance. En regroupant les données de différents articles, parmi les nouveaux nés vivants avec ST, 19 (23%) ont hérité d'un chromosome X d'origine paternelle et 65 (77%) d'un chromosome X maternel; parmi les avortements thérapeutiques 2 (29%) ont Xp et 5 (71%) ont Xm et, parmi les avortements spontanés, 8 (17%) ont Xp et 39 (83%) ont Xm. La taille et le poids des embryons ne sont pas précisés dans ces articles.

Ces variations phénotypiques en fonction de l'origine parentale du chromosome X pourraient nous guider dans la mise en évidence des gènes soumis à empreinte impliqués dans la croissance fœtale. Des études complémentaires comparant l'expression des gènes (surtout ceux impliqués dans la croissance) dans le placenta et dans les embryons ST des deux groupes Xm et Xp pourraient être intéressantes (sur une dizaine d'embryons; puces à ADN sur les lymphocytes, puces évaluant la méthylation) (Urbach and Benvenisty 2009). Concernant la taille, il serait aussi intéressant d'étudier les variations d'expression de X^{mat} versus X^{pat} en fonction d'un stimulus (ex : le traitement par GH (Whatmore, Patel et al. 2009)) si des réponses différentes à l'hormone de croissance sont trouvées entre les deux groupes.

En parallèle à cette étude physiopathologique, nous avons étudié dans notre cohorte de 568 femmes de 22 ans en moyenne ayant un ST, le suivi médical lors de la période charnière de la transition entre le suivi Pédiatrie et la médecine Adulte.

Notre étude a mis en évidence que les jeunes femmes ayant un syndrome de Turner à 22 ans en moyenne ont un suivi très éloigné des recommandations. Certains facteurs explicatifs des différences de suivi ont été mis en évidence, de façon statistiquement significative. Le premier facteur est le type de médecins prenant en charge les femmes ayant un ST. L'évaluation de la pratique médicale, peu répandue est pourtant instructive. Les endocrinologues pédiatres traitant par hormone de croissance leurs patientes, prescrivent plus d'examens complémentaires (seuls la prise de tension artérielle et les bilans hépatiques ne diffèrent pas significativement des autres médecins) les endocrinologues adultes sont aussi, dans leurs prescriptions plus proches des recommandations. Les gynécologues, quant à eux, prescriront moins d'échographie cardiaque que les autres médecins. Un suivi dans un grand centre sera plus proche des recommandations.

Le second facteur explicatif dépend des patientes. A côté du rôle du médecin, un meilleur niveau d'éducation des patientes et une plus haute catégorie

socioprofessionnelle favoriseront un meilleur suivi en ce qui concerne la réalisation d'examens complémentaires à la période de transition. De plus, les jeunes femmes ressentant une gêne physique sur les scores de qualité de vie et celles ayant plus de pathologies liées au ST feront plus d'examens complémentaires. Cette étude nous a permis d'insister sur l'attention particulière à apporter aux patientes ayant un moins bon niveau d'éducation et issues de milieu socioprofessionnel moins favorisé. Une si grande différence entre les recommandations faites par les experts et la réalité des patientes nous incite à nous poser la question de recommandations trop contraignantes chez des patientes asymptomatiques et à insister sur l'importance de l'évaluation de ces recommandations. Notre étude concerne le suivi médical en 2001 de la population de jeunes femmes de 22 ans ayant un ST, et le compare aux recommandations écrites en 2007; il serait donc intéressant de réévaluer le suivi à la période de transition dans quelques années pour évaluer l'impact des recommandations sur la santé des patientes, leur impact économique, et pour les modifier si nécessaire.

L'enjeu est de taille pour le médecin à cette période charnière de la vie de ses patientes. Son rôle ne se limite pas à celui d'un prescripteur d'examens complémentaires en accord avec les recommandations, brandissant le spectre des pathologies potentielles plus ou moins floues pour des patientes, (qui ne l'oublions pas sont asymptomatiques pour la pathologie concernée). Mais il doit savoir travailler en alliance avec ces jeunes femmes pour leur permettre d'accepter en particulier les problèmes de fertilité en ayant connaissance des nouvelles thérapeutiques. Il devra savoir faire comprendre l'importance du suivi médical ultérieur en encourageant l'autonomisation.

En conclusion, une réévaluation des recommandations concernant le syndrome de Turner s'avère nécessaire à distance, avec des possibles réajustements de ces recommandations par la suite. Cette pratique d'évaluation concrète des textes de recommandations est utile et devrait être plus répandue pour éviter les trop grands décalages entre la théorie et la pratique.

E- CONCLUSION

Ce travail de thèse nous a permis une meilleure compréhension du syndrome de Turner, aussi bien concernant les facteurs déterminants le suivi médical, facteurs communs au suivi de différentes pathologies, que concernant les mécanismes à l'origine des variations phénotypiques. En effet, ce syndrome que l'on croyait connaître s'avère plus complexe que prévu et les variations phénotypiques restent mal comprises.

Alors que des modèles murins XOmat et XOpat ont permis de mettre en évidence une différence d'expression de gènes sur le chromosome X en fonction de l'origine parentale, l'origine parentale du X étant associée à une différence phénotypique, nous avons confirmé que le rôle de l'origine parentale du chromosome X chez les femmes ayant un ST est modéré et influence uniquement la taille à la naissance et le terme. En effet, les résultats du rôle de l'origine parentale du chromosome X dans différentes études restaient controversés, en partie du fait de cohortes de petite taille et d'un mélange des caryotypes. De part sa taille et la précision de ses données cliniques, nous pouvons conclure qu'il n'y pas (ou très peu) d'impact de l'origine du chromosome X sur les pathologies liées au ST ni sur les scores de qualité de vie. Ces données nous incitent, d'une part, à approfondir les recherches sur les gènes impliqués dans la croissance fœtale et soumis à empreinte parentale et d'autre part à poursuivre la découverte des gènes sur le chromosome X impliqués dans le phénotype du ST.

En parallèle à cette étude physiopathologique, notre étude du suivi à la fin de l'adolescence a permis d'identifier les facteurs influençant réellement le suivi médical des jeunes femmes ayant un ST et de mettre en évidence le décalage entre les recommandations et la réalité.

F- BIBLIOGRAPHIE

- Amos-Landgraf, J. M., A. Cottle, et al. (2006). "X chromosome-inactivation patterns of 1,005 phenotypically unaffected females." *Am J Hum Genet* **79**(3): 493-499.
- Amundson, E., U. W. Boman, et al. (2010). "Impact of growth hormone therapy on quality of life in adults with turner syndrome." *J Clin Endocrinol Metab* **95**(3): 1355-1359.
- Arulanantham, K., M. S. Kramer, et al. (1980). "The association of inflammatory bowel disease and X chromosomal abnormality." *Pediatrics* **66**(1): 63-67.
- Baena, N., C. De Vigan, et al. (2004). "Turner syndrome: evaluation of prenatal diagnosis in 19 European registries." *Am J Med Genet A* **129A**(1): 16-20.
- Bakalov, V. K., M. M. Cooley, et al. (2004). "Impaired insulin secretion in the Turner metabolic syndrome." *J Clin Endocrinol Metab* **89**(7): 3516-3520.
- Bannink, E. M., H. Raat, et al. (2006). "Quality of life after growth hormone therapy and induced puberty in women with Turner syndrome." *J Pediatr* **148**(1): 95-101.
- Belin, V., V. Cusin, et al. (1998). "SHOX mutations in dyschondrosteosis (Leri-Weill syndrome)." *Nat Genet* **19**(1): 67-69.
- Boman, U. W., A. Moller, et al. (1998). "Psychological aspects of Turner syndrome." *J Psychosom Obstet Gynaecol* **19**(1): 1-18.
- Bonamico, M., A. M. Pasquino, et al. (2002). "Prevalence and clinical picture of celiac disease in Turner syndrome." *J Clin Endocrinol Metab* **87**(12): 5495-5498.
- Bondy, C., V. K. Bakalov, et al. (2006). "Deficient medical care for adults with the Turner syndrome." *Ann Intern Med* **145**(11): 866-867.
- Bondy, C. A. (2007). "Care of girls and women with Turner syndrome: A guideline of the Turner Syndrome Study Group." *J Clin Endocrinol Metab* **92**(1): 10-25.
- Bondy, C. A., I. Cenicerros, et al. (2006). "Prolonged rate-corrected QT interval and other electrocardiogram abnormalities in girls with Turner syndrome." *Pediatrics* **118**(4): e1220-1225.
- Bondy, C. A., L. A. Matura, et al. (2007). "The physical phenotype of girls and women with Turner syndrome is not X-imprinted." *Hum Genet* **121**(3-4): 469-474.
- Borgstrom, B., J. Hreinsson, et al. (2009). "Fertility preservation in girls with turner syndrome: prognostic signs of the presence of ovarian follicles." *J Clin Endocrinol Metab* **94**(1): 74-80.
- Boucher, C. A., C. A. Sargent, et al. (2001). "Breakpoint analysis of Turner patients with partial Xp deletions: implications for the lymphoedema gene location." *J Med Genet* **38**(9): 591-598.
- Brockdorff, N. (2002). "X-chromosome inactivation: closing in on proteins that bind Xist RNA." *Trends Genet* **18**(7): 352-358.
- Brown, C. J., R. G. Lafreniere, et al. (1991). "Localization of the X inactivation centre on the human X chromosome in Xq13." *Nature* **349**(6304): 82-84.
- Bruandet, M., N. Molko, et al. (2004). "A cognitive characterization of dyscalculia in Turner syndrome." *Neuropsychologia* **42**(3): 288-298.
- Cabrol, S., C. Saab, et al. (1996). "[Turner syndrome: spontaneous growth of stature, weight increase and accelerated bone maturation]." *Arch Pediatr* **3**(4): 313-318.
- Carel, J. C. (2005). "Growth hormone in Turner syndrome: twenty years after, what can we tell our patients?" *J Clin Endocrinol Metab* **90**(6): 3793-3794.
- Carel, J. C., E. Ecosse, et al. (2005). "Quality of life determinants in young women with turner's syndrome after growth hormone treatment: results of the StaTur population-based cohort study." *J Clin Endocrinol Metab* **90**(4): 1992-1997.

- Carel, J. C., E. Ecosse, et al. (2002). "Adult height after long term treatment with recombinant growth hormone for idiopathic isolated growth hormone deficiency: observational follow up study of the French population based registry." *BMJ* **325**(7355): 70.
- Carel, J. C., C. Elie, et al. (2006). "Self-esteem and social adjustment in young women with Turner syndrome--influence of pubertal management and sexuality: population-based cohort study." *J Clin Endocrinol Metab* **91**(8): 2972-2979.
- Carrel, L. and H. F. Willard (2005). "X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females." *Nature* **434**(7031): 400-404.
- Castro, A. V., K. Okoshi, et al. (2002). "Cardiovascular assessment of patients with Ullrich-Turner's Syndrome on Doppler echocardiography and magnetic resonance imaging." *Arq Bras Cardiol* **78**(1): 51-58.
- Chalard, F., S. Ferey, et al. (2005). "Aortic dilatation in Turner syndrome: the role of MRI in early recognition." *Pediatr Radiol* **35**(3): 323-326.
- Chernausek, S. D., K. M. Attie, et al. (2000). "Growth hormone therapy of Turner syndrome: the impact of age of estrogen replacement on final height. Genentech, Inc., Collaborative Study Group." *J Clin Endocrinol Metab* **85**(7): 2439-2445.
- Christin-Maitre, S. (2008). "[Taking care of patients with Turner syndrome, published by French Haute Autorite de sante (HAS)]." *Gynecol Obstet Fertil* **36**(7-8): 826-827.
- Chrousos, G. A., J. L. Ross, et al. (1984). "Ocular findings in Turner syndrome. A prospective study." *Ophthalmology* **91**(8): 926-928.
- Chu, C. E., M. D. Donaldson, et al. (1994). "Possible role of imprinting in the Turner phenotype." *J Med Genet* **31**(11): 840-842.
- Ciaudo, C., A. Bourdet, et al. (2006). "Nuclear mRNA degradation pathway(s) are implicated in Xist regulation and X chromosome inactivation." *PLoS Genet* **2**(6): e94.
- Clark, E. B. (1984). "Neck web and congenital heart defects: a pathogenic association in 45 X-O Turner syndrome?" *Teratology* **29**(3): 355-361.
- Clement-Jones, M., S. Schiller, et al. (2000). "The short stature homeobox gene SHOX is involved in skeletal abnormalities in Turner syndrome." *Hum Mol Genet* **9**(5): 695-702.
- Conlin, L. K., B. D. Thiel, et al. (2010). "Mechanisms of mosaicism, chimerism and uniparental disomy identified by single nucleotide polymorphism array analysis." *Hum Mol Genet* **19**(7): 1263-1275.
- Cools, M., S. L. Drop, et al. (2006). "Germ cell tumors in the intersex gonad: old paths, new directions, moving frontiers." *Endocr Rev* **27**(5): 468-484.
- Coopersmith, S. (1981). "SEI (Self-Esteem Inventories)." Palo Alto, CA: Consulting Psychologists Press.
- Cutter, W. J., E. M. Daly, et al. (2005). "Influence of X Chromosome and Hormones on Human Brain Development: A Magnetic Resonance Imaging and Proton Magnetic Resonance Spectroscopy Study of Turner Syndrome." *Biol Psychiatry*.
- Cutter, W. J., E. M. Daly, et al. (2006). "Influence of X chromosome and hormones on human brain development: a magnetic resonance imaging and proton magnetic resonance spectroscopy study of Turner syndrome." *Biol Psychiatry* **59**(3): 273-283.
- Davenport, M. L. (2010). "Approach to the patient with Turner syndrome." *J Clin Endocrinol Metab* **95**(4): 1487-1495.
- Davenport, M. L., N. Punyasavatsut, et al. (2002). "Growth failure in early life: an important manifestation of Turner syndrome." *Horm Res* **57**(5-6): 157-164.
- Davies, W., A. Isles, et al. (2005). "Xlr3b is a new imprinted candidate for X-linked parent-of-origin effects on cognitive function in mice." *Nat Genet* **37**(6): 625-629.

- Davison, R. M., M. Fox, et al. (2000). "Mapping of the POF1 locus and identification of putative genes for premature ovarian failure." Mol Hum Reprod **6**(4): 314-318.
- Dawson-Falk, K. L., A. M. Wright, et al. (1992). "Cardiovascular evaluation in Turner syndrome: utility of MR imaging." Australas Radiol **36**(3): 204-209.
- Devernay, M., E. Ecosse, et al. (2009). "Determinants of medical care for young women with Turner syndrome." J Clin Endocrinol Metab **94**(9): 3408-3413.
- Downey, J., A. A. Ehrhardt, et al. (1989). "Psychopathology and social functioning in women with Turner syndrome." J Nerv Ment Dis **177**(4): 191-201.
- Elsheikh, M., B. Casadei, et al. (2001). "Hypertension is a major risk factor for aortic root dilatation in women with Turner's syndrome." Clin Endocrinol (Oxf) **54**(1): 69-73.
- Elsheikh, M., J. A. Wass, et al. (2001). "Autoimmune thyroid syndrome in women with Turner's syndrome--the association with karyotype." Clin Endocrinol (Oxf) **55**(2): 223-226.
- Ergur, A. T., G. Ocal, et al. (2008). "Paternal X could relate to arithmetic function; study of cognitive function and parental origin of X chromosome in Turner syndrome." Pediatr Int **50**(2): 172-174.
- Ergur, A. T., G. Ocal, et al. (2008). "Paternal X could relate to arithmetic function; study of cognitive function and parental origin of X chromosome in Turner syndrome." Pediatr Int **50**(2): 172-174.
- Evans, M. J. and M. H. Kaufman (1981). "Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos." Nature **292**(5819): 154-156.
- Ferguson-Smith, M. A. (1965). "Karyotype-Phenotype Correlations in Gonadal Dysgenesis and Their Bearing on the Pathogenesis of Malformations." J Med Genet **39**: 142-155.
- Frost, J. M. and G. E. Moore (2010). "The importance of imprinting in the human placenta." PLoS Genet **6**: e1001015.
- Gabory, A. and L. Dandolo (2005). "[Epigenetics and development: genomic imprinting]." Med Sci (Paris) **21**(4): 390-395.
- Germain, E. L. and L. P. Plotnick (1986). "Age-related anti-thyroid antibodies and thyroid abnormalities in Turner syndrome." Acta Paediatr Scand **75**(5): 750-755.
- Goldberg, D. (1972). "The detection of psychiatric illness by questionnaire." London: Oxford University Press.
- Good, C. D., K. Lawrence, et al. (2003). "Dosage-sensitive X-linked locus influences the development of amygdala and orbitofrontal cortex, and fear recognition in humans." Brain **126**(Pt 11): 2431-2446.
- Gosden, R., J. Trasler, et al. (2003). "Rare congenital disorders, imprinted genes, and assisted reproductive technology." Lancet **361**(9373): 1975-1977.
- Goto, T., E. Wright, et al. (1997). "Paternal X-chromosome inactivation in human trophoblastic cells." Mol Hum Reprod **3**(1): 77-80.
- Gotzsche, C. O., B. Krag-Olsen, et al. (1994). "Prevalence of cardiovascular malformations and association with karyotypes in Turner's syndrome." Arch Dis Child **71**(5): 433-436.
- Gravholt, C. H., K. W. Hansen, et al. (2006). "Nocturnal hypertension and impaired sympathovagal tone in Turner syndrome." J Hypertens **24**(2): 353-360.
- Gravholt, C. H., S. Juul, et al. (1998). "Morbidity in Turner syndrome." J Clin Epidemiol **51**(2): 147-158.
- Gravholt, C. H., K. Landin-Wilhelmsen, et al. (2006). "Clinical and epidemiological description of aortic dissection in Turner's syndrome." Cardiol Young **16**(5): 430-436.
- Gravholt, C. H., R. W. Naeraa, et al. (1998). "Glucose metabolism, lipid metabolism, and cardiovascular risk factors in adult Turner's syndrome. The impact of sex hormone replacement." Diabetes Care **21**(7): 1062-1070.

- Gregg, C., J. Zhang, et al. (2010). "Sex-specific parent-of-origin allelic expression in the mouse brain." Science **329**(5992): 682-685.
- Gunther, D. F., E. Eugster, et al. (2004). "Ascertainment bias in Turner syndrome: new insights from girls who were diagnosed incidentally in prenatal life." Pediatrics **114**(3): 640-644.
- Hamelin, C. E., G. Anglin, et al. (2006). "Genomic imprinting in Turner syndrome: effects on response to growth hormone and on risk of sensorineural hearing loss." J Clin Endocrinol Metab **91**(8): 3002-3010.
- Han, T. S., B. Cadge, et al. (2006). "Hearing impairment and low bone mineral density increase the risk of bone fractures in women with Turner's syndrome." Clin Endocrinol (Oxf) **65**(5): 643-647.
- Harrison, K. B. (1989). "X-chromosome inactivation in the human cytotrophoblast." Cytogenet Cell Genet **52**(1-2): 37-41.
- Harrison, K. B. and D. Warburton (1986). "Preferential X-chromosome activity in human female placental tissues." Cytogenet Cell Genet **41**(3): 163-168.
- Hassold, T., D. Pettay, et al. (1992). "Molecular studies of parental origin and mosaicism in 45,X conceptuses." Hum Genet **89**(6): 647-652.
- Heard, E. (2004). "Recent advances in X-chromosome inactivation." Curr Opin Cell Biol **16**(3): 247-255.
- Heard, E., P. Avner, et al. (1994). "Creation of a deletion series of mouse YACs covering a 500 kb region around Xist." Nucleic Acids Res **22**(10): 1830-1837.
- Ho, V. B., V. K. Bakalov, et al. (2004). "Major vascular anomalies in Turner syndrome: prevalence and magnetic resonance angiographic features." Circulation **110**(12): 1694-1700.
- Huber, C., M. Rosilio, et al. (2006). "High incidence of SHOX anomalies in individuals with short stature." J Med Genet **43**(9): 735-739.
- Hultcrantz, M. (2003). "Ear and hearing problems in Turner's syndrome." Acta Otolaryngol **123**(2): 253-257.
- Hultcrantz, M., L. Sylven, et al. (1994). "Ear and hearing problems in 44 middle-aged women with Turner's syndrome." Hear Res **76**(1-2): 127-132.
- Huynh, K. D. and J. T. Lee (2003). "Inheritance of a pre-inactivated paternal X chromosome in early mouse embryos." Nature **426**(6968): 857-862.
- Jacobs, P. A., P. R. Betts, et al. (1990). "A cytogenetic and molecular reappraisal of a series of patients with Turner's syndrome." Ann Hum Genet **54** (Pt 3): 209-223.
- Kesler, S. R., C. M. Blasey, et al. (2003). "Effects of X-monosomy and X-linked imprinting on superior temporal gyrus morphology in Turner syndrome." Biol Psychiatry **54**(6): 636-646.
- Kesler, S. R., A. Garrett, et al. (2004). "Amygdala and hippocampal volumes in Turner syndrome: a high-resolution MRI study of X-monosomy." Neuropsychologia **42**(14): 1971-1978.
- Khalil, A. M., F. Z. Boyar, et al. (2004). "Dynamic histone modifications mark sex chromosome inactivation and reactivation during mammalian spermatogenesis." Proc Natl Acad Sci U S A **101**(47): 16583-16587.
- Kirk, J. W., M. M. Mazzocco, et al. (2005). "Assessing executive dysfunction in girls with fragile X or Turner syndrome using the Contingency Naming Test (CNT)." Dev Neuropsychol **28**(3): 755-777.
- Ko, J. M., J. M. Kim, et al. "Influence of parental origin of the X-chromosome on physical phenotypes and growth hormone responsiveness of patients with Turner syndrome." Clin Endocrinol (Oxf).

- Ko, J. M., J. M. Kim, et al. (2010). "Influence of parental origin of the X chromosome on physical phenotypes and GH responsiveness of patients with Turner syndrome." Clin Endocrinol (Oxf) **73**(1): 66-71.
- Kobayashi, S., A. Isotani, et al. (2006). "Comparison of gene expression in male and female mouse blastocysts revealed imprinting of the X-linked gene, RhoX5/Pem, at preimplantation stages." Curr Biol **16**(2): 166-172.
- Kochi, C., C. A. Longui, et al. (2007). "The influence of parental origin of X chromosome genes on the stature of patients with 45 X Turner syndrome." Genet Mol Res **6**(1): 1-7.
- Koeberl, D. D., B. McGillivray, et al. (1995). "Prenatal diagnosis of 45,X/46,XX mosaicism and 45,X: implications for postnatal outcome." Am J Hum Genet **57**(3): 661-666.
- Landin-Wilhelmsen, K., I. Bryman, et al. (1999). "Osteoporosis and fractures in Turner syndrome-importance of growth promoting and oestrogen therapy." Clin Endocrinol (Oxf) **51**(4): 497-502.
- Larizza, D., M. Locatelli, et al. (2000). "Serum liver enzymes in Turner syndrome." Eur J Pediatr **159**(3): 143-148.
- Lawrence, K., J. Kuntsi, et al. (2003). "Face and emotion recognition deficits in Turner syndrome: a possible role for X-linked genes in amygdala development." Neuropsychology **17**(1): 39-49.
- Leplege, A., E. Ecosse, et al. (1998). "The French SF-36 Health Survey: translation, cultural adaptation and preliminary psychometric evaluation." J.Clin.Epidemiol. **51**: 1013-1023.
- Lippe, B., M. E. Geffner, et al. (1988). "Renal malformations in patients with Turner syndrome: imaging in 141 patients." Pediatrics **82**(6): 852-856.
- Livadas, S., P. Xekouki, et al. (2005). "Prevalence of thyroid dysfunction in Turner's syndrome: a long-term follow-up study and brief literature review." Thyroid **15**(9): 1061-1066.
- Looijenga, L. H., A. J. Gillis, et al. (1999). "Heterogeneous X inactivation in trophoblastic cells of human full-term female placentas." Am J Hum Genet **64**(5): 1445-1452.
- Lopes, A. M., P. S. Burgoyne, et al. (2010). "Transcriptional changes in response to X chromosome dosage in the mouse: implications for X inactivation and the molecular basis of Turner Syndrome." BMC Genomics **11**: 82.
- Loscalzo, M. L., P. L. Van, et al. (2005). "Association between fetal lymphedema and congenital cardiovascular defects in Turner syndrome." Pediatrics **115**(3): 732-735.
- Lyon, A. J., M. A. Preece, et al. (1985). "Growth curve for girls with Turner syndrome." Arch Dis Child **60**(10): 932-935.
- Lyon, M. F. (1961). "Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus* L.)." Nature **190**: 372-373.
- Maraschio, P., R. Tupler, et al. (1996). "An analysis of Xq deletions." Hum Genet **97**(3): 375-381.
- Massa, G., C. Heinrichs, et al. (2003). "Late or delayed induced or spontaneous puberty in girls with Turner syndrome treated with growth hormone does not affect final height." J Clin Endocrinol Metab **88**(9): 4168-4174.
- Mathisen, B., S. Reilly, et al. (1992). "Oral-motor dysfunction and feeding disorders of infants with Turner syndrome." Dev Med Child Neurol **34**(2): 141-149.
- Mazzanti, L., D. Prandstraller, et al. (1988). "Heart disease in Turner's syndrome." Helv Paediatr Acta **43**(1-2): 25-31.
- Mazzocco, M. M. (1998). "A process approach to describing mathematics difficulties in girls with Turner syndrome." Pediatrics **102**(2 Pt 3): 492-496.

- Mazzocco, M. M., L. Thompson, et al. (2006). "Language use in females with fragile X or Turner syndrome during brief initial social interactions." J Dev Behav Pediatr **27**(4): 319-328.
- Mazzola, F., A. Seigal, et al. (2006). "Eye tracking and fear recognition deficits in Turner syndrome." Soc Neurosci **1**(3-4): 259-269.
- McCauley, E., P. Feuillan, et al. (2001). "Psychosocial development in adolescents with Turner syndrome." J Dev Behav Pediatr **22**(6): 360-365.
- McCauley, E., T. Kay, et al. (1987). "The Turner syndrome: cognitive deficits, affective discrimination, and behavior problems." Child Dev **58**(2): 464-473.
- McCauley, E., V. P. Sybert, et al. (1986). "Psychosocial adjustment of adult women with Turner syndrome." Clin Genet **29**(4): 284-290.
- Migeon, B. R. and T. T. Do (1978). "In search of nonrandom X inactivation: studies of the placenta from newborns heterozygous for glucose-6-phosphate dehydrogenase." Basic Life Sci **12**: 379-391.
- Migeon, B. R. and T. T. Do (1979). "In search of non-random X inactivation: studies of fetal membranes heterozygous for glucose-6-phosphate dehydrogenase." Am J Hum Genet **31**(5): 581-585.
- Mohandas, T. K., M. B. Passage, et al. (1989). "X-chromosome inactivation in cultured cells from human chorionic villi." Somat Cell Mol Genet **15**(2): 131-136.
- Molko, N., A. Cachia, et al. (2004). "Brain anatomy in Turner syndrome: evidence for impaired social and spatial-numerical networks." Cereb Cortex **14**(8): 840-850.
- Moreira de Mello, J. C., E. S. de Araujo, et al. (2010). "Random X inactivation and extensive mosaicism in human placenta revealed by analysis of allele-specific gene expression along the X chromosome." PLoS One **5**(6): e10947.
- Mortensen, K. H., M. D. Rohde, et al. "Repeated spontaneous pregnancies in 45,X Turner syndrome." Obstet Gynecol **115**(2 Pt 2): 446-449.
- Nathwani, N. C., R. Unwin, et al. (2000). "Blood pressure and Turner syndrome." Clin Endocrinol (Oxf) **52**(3): 363-370.
- Nathwani, N. C., R. Unwin, et al. (2000). "The influence of renal and cardiovascular abnormalities on blood pressure in Turner syndrome." Clin Endocrinol (Oxf) **52**(3): 371-377.
- Navarro, P. and P. Avner (2010). "An embryonic story: analysis of the gene regulative network controlling Xist expression in mouse embryonic stem cells." Bioessays **32**(7): 581-588.
- Navarro, P., S. Chantalat, et al. (2009). "A role for non-coding Tsix transcription in partitioning chromatin domains within the mouse X-inactivation centre." Epigenetics Chromatin **2**(1): 8.
- Navarro, P., D. R. Page, et al. (2006). "Tsix-mediated epigenetic switch of a CTCF-flanked region of the Xist promoter determines the Xist transcription program." Genes Dev **20**(20): 2787-2792.
- Nazarenko, S. A., V. A. Timoshevsky, et al. (1999). "High frequency of tissue-specific mosaicism in Turner syndrome patients." Clin Genet **56**(1): 59-65.
- Nicolaides, K. H., G. Azar, et al. (1992). "Fetal nuchal oedema: associated malformations and chromosomal defects." Fetal Diagn Ther **7**(2): 123-131.
- Nielsen, J. and M. Wohler (1991). "Chromosome abnormalities found among 34,910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Arhus, Denmark." Hum Genet **87**(1): 81-83.
- Niesler, B., R. Roth, et al. (2007). "The novel human SHOX allelic variant database." Hum Mutat **28**(10): 933-938.

- Ogata, T., K. Muroya, et al. (2001). "Turner syndrome and Xp deletions: clinical and molecular studies in 47 patients." J Clin Endocrinol Metab **86**(11): 5498-5508.
- Okamoto, I., A. P. Otte, et al. (2004). "Epigenetic dynamics of imprinted X inactivation during early mouse development." Science **303**(5658): 644-649.
- Ostberg, J. E., J. A. Brookes, et al. (2004). "A comparison of echocardiography and magnetic resonance imaging in cardiovascular screening of adults with Turner syndrome." J Clin Endocrinol Metab **89**(12): 5966-5971.
- Ostberg, J. E., A. E. Donald, et al. (2005). "Vasculopathy in Turner syndrome: arterial dilatation and intimal thickening without endothelial dysfunction." J Clin Endocrinol Metab **90**(9): 5161-5166.
- Pasquino, A. M., F. Passeri, et al. (1997). "Spontaneous pubertal development in Turner's syndrome. Italian Study Group for Turner's Syndrome." J Clin Endocrinol Metab **82**(6): 1810-1813.
- Pavlidis, K., E. McCauley, et al. (1995). "Psychosocial and sexual functioning in women with Turner syndrome." Clin Genet **47**(2): 85-89.
- PNDS (2008). "Syndrome de Turner." French Haute Autorité de Santé.
- Quan, F., J. Janas, et al. (1997). "Uniparental disomy of the entire X chromosome in a female with Duchenne muscular dystrophy." Am J Hum Genet **60**(1): 160-165.
- Quigley, C. A., B. J. Crowe, et al. (2002). "Growth hormone and low dose estrogen in Turner syndrome: results of a United States multi-center trial to near-final height." J Clin Endocrinol Metab **87**(5): 2033-2041.
- Raefski, A. S. and M. J. O'Neill (2005). "Identification of a cluster of X-linked imprinted genes in mice." Nat Genet **37**(6): 620-624.
- Ranke, M. B., A. Lindberg, et al. (2000). "Prediction of long-term response to recombinant human growth hormone in Turner syndrome: development and validation of mathematical models. KIGS International Board. Kabi International Growth Study." J Clin Endocrinol Metab **85**(11): 4212-4218.
- Rappold, G., W. F. Blum, et al. (2007). "Genotypes and phenotypes in children with short stature: clinical indicators of SHOX haploinsufficiency." J Med Genet **44**(5): 306-313.
- Rappold, G. A., M. Fukami, et al. (2002). "Deletions of the homeobox gene SHOX (short stature homeobox) are an important cause of growth failure in children with short stature." J Clin Endocrinol Metab **87**(3): 1402-1406.
- Rastan, S. and E. J. Robertson (1985). "X-chromosome deletions in embryo-derived (EK) cell lines associated with lack of X-chromosome inactivation." J Embryol Exp Morphol **90**: 379-388.
- Raznahan, A., W. Cutter, et al. (2010). "Cortical anatomy in human X monosomy." Neuroimage **49**(4): 2915-2923.
- Reik, W., W. Dean, et al. (2001). "Epigenetic reprogramming in mammalian development." Science **293**(5532): 1089-1093.
- Reiter, E. O., S. L. Blethen, et al. (2001). "Early initiation of growth hormone treatment allows age-appropriate estrogen use in Turner's syndrome." J Clin Endocrinol Metab **86**(5): 1936-1941.
- Rolstad, S. G., A. Moller, et al. (2007). "Sexual functioning and partner relationships in women with turner syndrome: some empirical data and theoretical considerations regarding sexual desire." J Sex Marital Ther **33**(3): 231-247.
- Rongen-Westerlaken, C., L. Corel, et al. (1997). "Reference values for height, height velocity and weight in Turner's syndrome. Swedish Study Group for GH treatment." Acta Paediatr **86**(9): 937-942.

- Ropers, H. H., G. Wolff, et al. (1978). "Preferential X inactivation in human placenta membranes: is the paternal X inactive in early embryonic development of female mammals?" Hum Genet **43**(3): 265-273.
- Ross, J., D. Roeltgen, et al. (2006). "Cognition and the sex chromosomes: studies in Turner syndrome." Horm Res **65**(1): 47-56.
- Ross, J., A. Zinn, et al. (2000). "Neurodevelopmental and psychosocial aspects of Turner syndrome." Ment Retard Dev Disabil Res Rev **6**(2): 135-141.
- Ross, J. L., D. Roeltgen, et al. (1998). "Effects of estrogen on nonverbal processing speed and motor function in girls with Turner's syndrome." J Clin Endocrinol Metab **83**(9): 3198-3204.
- Ross, J. L., D. Roeltgen, et al. (2000). "The Turner syndrome-associated neurocognitive phenotype maps to distal Xp." Am J Hum Genet **67**(3): 672-681.
- Ross, J. L., C. Scott, Jr., et al. (2001). "Phenotypes Associated with SHOX Deficiency." J Clin Endocrinol Metab **86**(12): 5674-5680.
- Ross, J. L., G. A. Stefanatos, et al. (2002). "Persistent cognitive deficits in adult women with Turner syndrome." Neurology **58**(2): 218-225.
- Roulot, D., C. Degott, et al. (2004). "Vascular involvement of the liver in Turner's syndrome." Hepatology **39**(1): 239-247.
- Rovet, J. (2004). "Turner syndrome: a review of genetic and hormonal influences on neuropsychological functioning." Child Neuropsychol **10**(4): 262-279.
- Rovet, J. and L. Ireland (1994). "Behavioral phenotype in children with Turner syndrome." J Pediatr Psychol **19**(6): 779-790.
- Ruiz, C., F. Lamm, et al. (1999). "Turner syndrome and multiple-marker screening." Clin Chem **45**(12): 2259-2261.
- Russell, H. F., D. Wallis, et al. (2006). "Increased prevalence of ADHD in Turner syndrome with no evidence of imprinting effects." J Pediatr Psychol **31**(9): 945-955.
- Sagi, L., N. Zuckerman-Levin, et al. (2007). "Clinical significance of the parental origin of the X chromosome in turner syndrome." J Clin Endocrinol Metab **92**(3): 846-852.
- Schinzle, A. A., W. P. Robinson, et al. (1993). "Exclusively paternal X chromosomes in a girl with short stature." Hum Genet **92**(2): 175-178.
- Schlessinger, D., L. Herrera, et al. (2002). "Genes and translocations involved in POF." Am J Med Genet **111**(3): 328-333.
- Schmidt, P. J., G. M. Cardoso, et al. (2006). "Shyness, social anxiety, and impaired self-esteem in Turner syndrome and premature ovarian failure." Jama **295**(12): 1374-1376.
- Schoemaker, M. J., A. J. Swerdlow, et al. (2008). "Cancer incidence in women with Turner syndrome in Great Britain: a national cohort study." Lancet Oncol **9**(3): 239-246.
- Skuse, D. H., R. S. James, et al. (1997). "Evidence from Turner's syndrome of an imprinted X-linked locus affecting cognitive function." Nature **387**(6634): 705-708.
- Skuse, D. H., J. S. Morris, et al. (2005). "Functional dissociation of amygdala-modulated arousal and cognitive appraisal, in Turner syndrome." Brain **128**(Pt 9): 2084-2096.
- Soriano-Guillen, L., J. Coste, et al. (2005). "Adult height and pubertal growth in Turner syndrome after treatment with recombinant growth hormone." J Clin Endocrinol Metab **90**(9): 5197-5204.
- Stephure, D. K. (2005). "Impact of growth hormone supplementation on adult height in turner syndrome: results of the Canadian randomized controlled trial." J Clin Endocrinol Metab **90**(6): 3360-3366.
- Stochholm, K., S. Juul, et al. (2006). "Prevalence, incidence, diagnostic delay, and mortality in Turner syndrome." J Clin Endocrinol Metab **91**(10): 3897-3902.

- Suwa, S. (1992). "Standards for growth and growth velocity in Turner's syndrome." Acta Paediatr Jpn **34**(2): 206-220; discussion 221.
- Sybert, V. (2001). "Turner syndrome. In: Cassidy SB, Allanson JE, eds. Management of genetic syndromes." New York: Wiley-Liss: 459-484.
- Sybert, V. P. and E. McCauley (2004). "Turner's syndrome." N Engl J Med **351**(12): 1227-1238.
- Tauber, M., N. Lounis, et al. (2004). "Wrist anomalies in Turner syndrome compared with Leri-Weill dyschondrosteosis: a new feature in Turner syndrome." Eur J Pediatr **163**(8): 475-481.
- Turner, H. (1938). "A syndrome of infantilism, congenital webbed neck and cubitus valgus." Endocrinology **23**: 566-574.
- Uehara, S., M. Tamura, et al. (2000). "X-chromosome inactivation in the human trophoblast of early pregnancy." J Hum Genet **45**(3): 119-126.
- Uematsu, A., T. Yorifuji, et al. (2002). "Parental origin of normal X chromosomes in Turner syndrome patients with various karyotypes: implications for the mechanism leading to generation of a 45,X karyotype." Am J Med Genet **111**(2): 134-139.
- Urbach, A. and N. Benvenisty (2009). "Studying early lethality of 45,XO (Turner's syndrome) embryos using human embryonic stem cells." PLoS One **4**(1): e4175.
- van Pareren, Y. K., S. M. de Muinck Keizer-Schrama, et al. (2003). "Final height in girls with turner syndrome after long-term growth hormone treatment in three dosages and low dose estrogens." J Clin Endocrinol Metab **88**(3): 1119-1125.
- van Pareren, Y. K., H. J. Duivenvoorden, et al. (2005). "Psychosocial functioning after discontinuation of long-term growth hormone treatment in girls with Turner syndrome." Horm Res **63**(5): 238-244.
- Van, P. L., V. K. Bakalov, et al. (2006). "Maternal X chromosome, visceral adiposity, and lipid profile." Jama **295**(12): 1373-1374.
- Verlinde, F., G. Massa, et al. (2004). "Health and psychosocial status of patients with turner syndrome after transition to adulthood: the Belgian experience." Horm Res **62**(4): 161-167.
- Vigneau, S. and P. Clerc (2006). "[Without Tsix, male X chromosome is inactivated]." Med Sci (Paris) **22**(11): 926-928.
- Volkl, T. M., K. Degenhardt, et al. (2005). "Cardiovascular anomalies in children and young adults with Ullrich-Turner syndrome the Erlangen experience." Clin Cardiol **28**(2): 88-92.
- Wang, X., P. D. Soloway, et al. (2010). "Paternally biased X inactivation in mouse neonatal brain." Genome Biol **11**(7): R79.
- Wang, Z., H. F. Willard, et al. (2006). "Evidence of influence of genomic DNA sequence on human X chromosome inactivation." PLoS Comput Biol **2**(9): e113.
- Weiss, L. (1971). "Additional evidence of gradual loss of germ cells in the pathogenesis of streak ovaries in Turner's syndrome." J Med Genet **8**(4): 540-544.
- Weiss, L. A., S. Purcell, et al. (2007). "Identification of EFHC2 as a quantitative trait locus for fear recognition in Turner syndrome." Hum Mol Genet **16**(1): 107-113.
- Weissman, M. M. and S. Bothwell (1976). "Assessment of social adjustment by patient self-report." Arch Gen Psychiatry **33**(9): 1111-1115.
- Whatmore, A. J., L. Patel, et al. (2009). "A pilot study to evaluate gene expression profiles in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from children with GH deficiency and Turner syndrome in response to GH treatment." Clin Endocrinol (Oxf) **70**(3): 429-434.

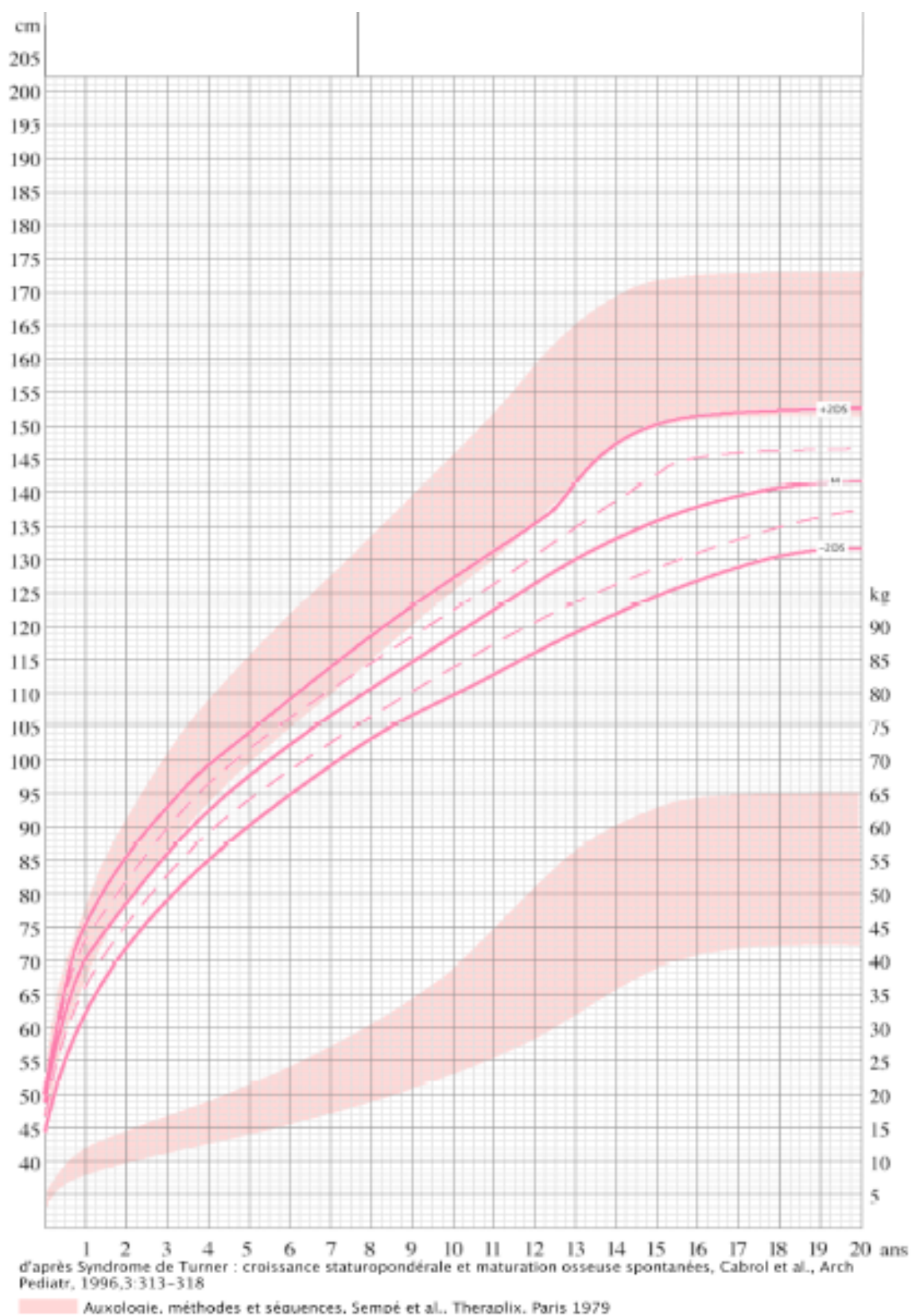
- Wiktor, A. and D. L. Van Dyke (2004). "FISH analysis helps identify low-level mosaicism in Ullrich-Turner syndrome patients." Genet Med **6**(3): 132-135.
- Wiktor, A. E. and D. L. Van Dyke (2005). "Detection of low level sex chromosome mosaicism in Ullrich-Turner syndrome patients." Am J Med Genet A **138A**(3): 259-261.
- Willemsen, R., C. J. Bontekoe, et al. (2002). "Timing of the absence of FMR1 expression in full mutation chorionic villi." Hum Genet **110**(6): 601-605.
- Wolff, D. J., S. Schwartz, et al. (2000). "Molecular determination of X inactivation pattern correlates with phenotype in women with a structurally abnormal X chromosome." Genet Med **2**(2): 136-141.
- Wutz, A. and R. Jaenisch (2000). "A shift from reversible to irreversible X inactivation is triggered during ES cell differentiation." Mol Cell **5**(4): 695-705.
- Zeng, S. M. and J. Yankowitz (2003). "X-inactivation patterns in human embryonic and extra-embryonic tissues." Placenta **24**(2-3): 270-275.
- Zinn, A. R., H. Kushner, et al. (2008). "EFHC2 SNP rs7055196 is not associated with fear recognition in 45,X Turner syndrome." Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet **147B**(4): 507-509.
- Zinn, A. R., V. S. Tonk, et al. (1998). "Evidence for a Turner syndrome locus or loci at Xp11.2-p22.1." Am J Hum Genet **63**(6): 1757-1766.

G- RESUME

Dans le syndrome de Turner, seule monosomie chromosomique viable, 1% des grossesses sont menées à terme. L'insuffisance ovarienne et la petite taille requièrent des traitements hormonaux. La morbidité et la mortalité nécessitent une surveillance médicale à vie. Les variations phénotypiques des personnes ayant ce syndrome restent mal comprises, nous avons voulu savoir si l'origine parentale du chromosome X pouvait expliquer en partie ces variations. En effet, des modèles murins XOmat et XOpat ont permis de détecter une différence d'expression cérébrale de gènes sur le chromosome X en fonction de l'origine parentale, différence associée à des variations phénotypiques. Le rôle de l'origine parentale du chromosome X dans différentes études de femmes ayant un syndrome de Turner restait controversé, en partie du fait de petites cohortes et d'un mélange des caryotypes. 556 femmes ayant un caryotype homogène 45,X ont été contactées pour participer à l'étude, 49% ont répondu. En comparant les microsatellites sur le chromosome X des filles et de leur mère on a conclu que 30,8% (57/185) des femmes ont hérité du chromosome X paternel et 69,2% (128/185), du chromosome X maternel. L'absence de mosaïcisme sanguin a été vérifiée par FISH (hybridation in situ fluorescente) du centromère du chromosome X sur 200 cellules, les femmes ayant un caryotype sanguin mosaïque ont été éliminées. Dans la cohorte de 185 femmes 45,X, le groupe ayant un chromosome X paternel a une plus petite taille de naissance et un âge gestationnel inférieur au groupe ayant hérité du X maternel. La taille adulte des groupes Xm et Xp est corrélée à la taille maternelle et la taille paternelle. Il n'y a pas de différence entre les groupes Xp et Xm concernant les pathologies en lien avec le syndrome de Turner, les mensurations ni les scores de qualité de vie.

En parallèle à cette étude physiopathologique, nous avons étudié chez 568 femmes de 22 ans en moyenne ayant un ST, un moment critique du suivi médical : la période de transition de la Pédiatrie vers la médecine Adulte. En effet, alors que les recommandations médicales concernant le suivi du ST sont nombreuses, très peu d'étude ont évalué le suivi réel à cette période et aucune n'a mis en évidence de facteurs explicatifs du suivi. Seulement 3,5% des jeunes femmes ont un suivi, concernant les examens complémentaires réalisés, en accord avec les recommandations internationales. Les facteurs associés, à une transition réussie sont: le type de médecin suivant la patiente, la taille du centre suivant la patiente en Pédiatrie, le niveau socio-économique des parents, le niveau d'éducation, la qualité de vie perçue et le nombre d'atteintes liées au syndrome de Turner.

Annexe 1 : Courbe de croissance dans le syndrome de Turner



Annexe 2 : Les données initiales de la base

La base France-Hypophyse comprend des données collectées avant la mise sous traitement par hormone de croissance telles que poids et taille de naissance, taille des parents, caryotype, signes dysmorphiques, malformations cardiaques et rénales, anomalies de l'audition et de la vision. Les signes dysmorphiques comprennent: fentes palpébrales anti-mongoloïdes, implantation basse des cheveux, pterygium coli, cou court et trapu, thorax en bouclier, mamelons écartés, cubitus valgus, brièveté du 4^{ème} métacarpien, brièveté du 4^{ème} métatarsien, ongles hyperconvexes, présence de naevi pigmentés et de cicatrices chéloïdes. Age, taille, poids, âge osseux, stade pubertaire, morbidités associées, durée et doses d'hormone de croissance, fréquence des injections et traitements associés ont été collectés ensuite lors des visites de suivi (tous les 3-6 mois) par les endocrinologues pédiatres de toute la France. Taille et poids ont été exprimés en DS, sur la base des normes de la population générale d'une part et des normes pour les patientes atteintes de syndrome de Turner. Le gain de taille dû au traitement par hormone de croissance a été estimé en comparant la taille projetée et la taille adulte en utilisant les courbes de tailles de syndrome de Turner (Lyon, Preece et al. 1985). La taille adulte était considérée comme atteinte si le taux de croissance était de 1 cm ou moins ou si l'âge osseux était de 16 ans ou plus.

Annexe 3 : Le questionnaire StaTur :

Nous avons utilisé les données du questionnaire StaTur dans l'article *Determinants of medical care for young women with Turner syndrome*

Ce questionnaire a permis d'évaluer la situation socio-professionnelle, le suivi médical, la qualité de vie et la vie sexuelle des jeunes femmes âgées de 22.6 ± 2.6 ans en moyenne (18.3-31.2), ayant un syndrome de Turner et ayant été traitées par hormone de croissance.

Le questionnaire envoyé comprend 4 volets. Le premier volet comporte des questions sur la situation socio-professionnelle (le statut légal, le niveau d'étude, la situation professionnelle, la profession du père, de la mère).

Le second comporte des questions sur le **suivi médical** : type de médecin(s) consulté(s) récemment, type de médecin(s) consulté(s) l'année dernière, nombre de consultations par différents types de médecins l'année précédente, état de santé actuel, traitement pris habituellement (y compris estro-progestatifs), bilans réalisés ces 4 dernières années (bilans biologiques, échographie cardiaque, audiométrie) et opinion sur le traitement par hormone de croissance.

Le troisième volet comporte quatre questionnaires standardisés : la version française validée du Medical Outcome Study Short Form 36 (SF-36) qui évalue la qualité de vie liée à la santé, le questionnaire général de santé 12 (General Health Questionnaire 12) (Goldberg 1972) qui permet une mesure de la détresse psychologique, le Coopersmith's Self-Esteem Inventory (SEI) (Coopersmith 1981), qui évalue l'estime de soi et le Social Adjustment Scale Self Report (SAS-SR) qui évalue l'adaptation sociale (Weissman and Bothwell 1976).

Le SF-36 contient 8 parties : santé générale (5 items), fonctions physiques (10 items), limitations des activités habituelles à cause d'un problème de santé (4 items), douleurs (2 items), énergie et fatigue (vitalité, 4 items), limitation des activités habituelles à cause d'un problème psychique (3 items), fonctions sociales (2 items), santé mentale (5 items). Les scores pour chaque partie s'étend de 0 à 100, avec un meilleur score indiquant une santé ou une fonction meilleure. Tous les items font référence à l'état du sujet durant les 4 semaines passées, sauf pour la fonction physique et la santé générale qui font référence à l'état dans lequel se trouve le sujet lorsqu'il remplit le questionnaire.

Nous avons utilisé la version 12 items du questionnaire de santé générale (GHQ-12) pour mesurer la détresse psychologique. Les scores de ce questionnaire vont de 0 à 12, avec un score supérieur ou égal à 3 indiquant un cas probable de désordre psychiatrique mineur tel que l'anxiété ou la dépression.

Le SEI contient des phrases que les personnes cochent si les phrases leur correspondent. Le score est basé sur une sous-échelle de 26 items généraux et 3 sous-échelles de 8 items évaluant l'estime de soi dans les domaines sociaux, familiaux et du travail. Le score total du SEI est la somme des 4 sous-échelles et va de 0 à 50. Plus le score est haut, plus l'estime de soi est élevée.

Le SAR-SR consiste en 54 questions mesurant l'adaptation sociale durant les 2 semaines passées. Il inclut des questions sur le travail, les activités sociales et de loisirs, les relations avec la famille, le mari, les enfants et la perception du fonctionnement économique. Chaque item est coté sur une échelle de 5 points, les scores les plus hauts indiquant la plus mauvaise insertion sociale.

La quatrième partie du questionnaire comprend des questions permettant d'évaluer la sexualité.

Etude StTur-X

EXEMPLAIRE À ENVOYER

Composantes phénotypiques du syndrome de Turner et origine parentale du chromosome X

Nom : _____

Prénom : _____

Date de naissance : _____

Demeurant à : _____

Il m'a été proposé de participer à une étude génétique dans le cadre de la recherche scientifique organisée par le Professeur Carel Jean-Claude. Il m'a été précisé que je suis libre d'accepter ou de refuser cette étude.

Afin d'éclairer ma décision, j'ai bien reçu et j'ai bien compris les informations suivantes :

- Le but de cette étude est de mieux comprendre pourquoi les femmes ayant un syndrome de Turner peuvent avoir des signes très différents.
- L'influence de l'origine parentale du chromosome X intact sur les signes du syndrome de Turner sera étudiée.
- Ma participation consiste en une prise de sang unique qui pourra être réalisée à l'occasion d'un bilan médical. Le risque encouru est celui de toute prise de sang (hématome par exemple). J'accepte de faire don du prélèvement sanguin dans un but de recherche. La recherche peut s'étendre sur plusieurs années, les prélèvements seront conservés au maximum 20 ans.
- Les résultats de cette étude pourront conduire à une meilleure compréhension du syndrome de Turner et à une prise en charge plus individualisée et plus adaptée.

J'ACCEPTE LIBREMENT ET VOLONTAIREMENT DE PARTICIPER A CETTE RECHERCHE
DANS LES CONDITIONS PRECISEES CI-DESSUS.

Les données recueillies demeureront strictement confidentielles. Les prélèvements sanguins seront conservés sous forme d'ADN et codés pour respecter l'anonymat. En aucun cas, mon nom n'apparaîtra dans la communication ou la publication des résultats. Je pourrai retirer à tout moment mon consentement de participation à cette recherche quelles que soient mes raisons sans conséquence sur ma prise en charge.

J'accepte que les données enregistrées à l'occasion de cette recherche comportant des données génétiques puissent faire l'objet d'un traitement informatisé. J'ai bien noté que le droit d'accès prévu par la loi, du 6 janvier 1978 modifiée par la loi n°94-548 du 1er juillet 1994, relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés (art. 40) s'exerce à tout moment auprès du médecin investigateur. Je pourrai exercer mon droit de rectification et d'opposition auprès de ce même médecin.

Conformément aux dispositions de la loi française, cette étude a reçu l'avis favorable du Comité de Qualification Institutionnel (CQI) de l'Inserm concernant ses aspects éthiques le 02/04/2007.

Je pourrai demander toute information complémentaire aux médecins organisateurs de l'étude.

Fait à Paris, le

Signature

de l'investigateur ou du médecin qui le représente

Signature

de la personne se prêtant à la recherche.

Etude StTur-X

EXEMPLAIRE À GARDER

Composantes phénotypiques du syndrome de Turner et origine parentale du chromosome X

Nom : _____

Prénom : _____

Date de naissance : _____

Demeurant à : _____

Il m'a été proposé de participer à une étude génétique dans le cadre de la recherche scientifique organisée par le Professeur Carel Jean-Claude. Il m'a été précisé que je suis libre d'accepter ou de refuser cette étude.

Afin d'éclairer ma décision, j'ai bien reçu et j'ai bien compris les informations suivantes :

- Le but de cette étude est de mieux comprendre pourquoi les femmes ayant un syndrome de Turner peuvent avoir des signes très différents.
- L'influence de l'origine parentale du chromosome X intact sur les signes du syndrome de Turner sera étudiée.
- Ma participation consiste en une prise de sang unique qui pourra être réalisée à l'occasion d'un bilan médical. Le risque encouru est celui de toute prise de sang (hématome par exemple). J'accepte de faire don du prélèvement sanguin dans un but de recherche. La recherche peut s'étendre sur plusieurs années, les prélèvements seront conservés au maximum 20 ans.
- Les résultats de cette étude pourront conduire à une meilleure compréhension du syndrome de Turner et à une prise en charge plus individualisée et plus adaptée.

J'ACCEPTE LIBREMENT ET VOLONTAIREMENT DE PARTICIPER A CETTE RECHERCHE
DANS LES CONDITIONS PRECISEES CI-DESSUS.

Les données recueillies demeureront strictement confidentielles. Les prélèvements sanguins seront conservés sous forme d'ADN et codés pour respecter l'anonymat. En aucun cas, mon nom n'apparaîtra dans la communication ou la publication des résultats. Je pourrai retirer à tout moment mon consentement de participation à cette recherche quelles que soient mes raisons sans conséquence sur ma prise en charge.

J'accepte que les données enregistrées à l'occasion de cette recherche comportant des données génétiques puissent faire l'objet d'un traitement informatisé. J'ai bien noté que le droit d'accès prévu par la loi, du 6 janvier 1978 modifiée par la loi n°94-548 du 1er juillet 1994, relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés (art. 40) s'exerce à tout moment auprès du médecin investigateur. Je pourrai exercer mon droit de rectification et d'opposition auprès de ce même médecin.

Conformément aux dispositions de la loi française, cette étude a reçu l'avis favorable du Comité de Qualification Institutionnel (CQI) de l'Inserm concernant ses aspects éthiques le 02/04/2007.

Je pourrai demander toute information complémentaire aux médecins organisateurs de l'étude.

Fait à Paris, le

Signature

de l'investigateur ou du médecin qui le représente

Signature

de la personne se prêtant à la recherche.



LETTRE D'INFORMATION

Etude StaTur-X

.....

Hôpital Robert Debré | Inserm Unité 690
48 bd Sérurier - 75 019 Paris
Tel : 01 40 03 19 42 - Fax: 01 40 03 19 50
E-mail : statux@rdebre.inserm.fr

4 septembre 2007

Mademoiselle, Madame,

Vous avez été suivie par un endocrinologue pédiatre et traitée par hormone de croissance pour un syndrome de Turner.

L'amélioration de la prise en charge des personnes atteintes de syndrome de Turner passe par une meilleure connaissance des mécanismes à l'origine de ce syndrome.

Le fait que les signes du syndrome de Turner puissent être très différents d'une personne à une autre reste mal connu. Le but de cette étude est de mieux comprendre les causes de ces variations. Dans le syndrome de Turner, les femmes n'ont qu'un seul chromosome X intact qui peut être hérité du père ou de la mère. L'objectif de l'étude est de déterminer si **l'origine parentale du chromosome X** intact influence **différentes composantes du syndrome de Turner** tels le gain de taille dû au traitement par l'hormone de croissance et leur état de santé.

- Pour déterminer l'origine parentale du chromosome X, il sera nécessaire d'effectuer **un prélèvement sanguin** qui peut-être réalisé en même temps qu'une prise de sang pour le syndrome de Turner. Pour que cette étude soit faisable il faut que votre mère y participe. Votre mère doit accepter de faire un prélèvement buccal (par simple grattage à l'aide d'un coton-tige stérile); un courrier explicatif lui est destiné dans cet envoi. Vous trouverez plus de détails sur ces prélèvements dans la lettre d'informations jointe.
- Nous souhaitons évaluer, à l'aide de **questionnaires** standardisés des éléments de votre qualité de vie et de votre état de santé actuel. Certaines informations vous ont déjà été demandées lors de l'étude "StaTur" mais nécessitent d'être réactualisées. Nous vous adressons un cahier comportant des questions, nous vous demandons de bien vouloir le remplir et le renvoyer dans l'enveloppe pré-affranchie qui est jointe.

Votre participation est primordiale pour progresser dans la compréhension du syndrome de Turner. Vous serez informée des résultats de cette étude (mais pas de l'origine parentale de votre chromosome X intact). Nous sommes à votre disposition pour répondre à toutes questions. Nous vous remercions par avance du temps et de l'attention que vous voudrez bien y consacrer, et vous prions de croire à l'expression de nos sentiments dévoués.

Pr Jean-Claude Carel

Dr Marie Devernay-Lefort



Etude StaTur-X

NOTE D'INFORMATION

pour des personnes adultes ayant un syndrome de Turner et participant à la recherche intitulée :
"Sta Tur-X : composantes phénotypiques du syndrome de Turner et origine parentale du chromosome X."

POUR QUE CETTE ÉTUDE SOIT FAISABLE, IL FAUT QUE VOTRE MÈRE Y PARTICIPE.

.....

INTRODUCTION

Vous avez été suivie par un endocrinologue pédiatre et traitée par hormone de croissance pour un syndrome de Turner.

Comme vous le savez les personnes atteintes de syndrome de Turner peuvent avoir des signes variables qui sont systématiquement recherchés par les médecins lors des différents bilans.

Le but de cette étude est de mieux comprendre les causes de ces variations, en d'autres termes pourquoi les personnes ayant un syndrome de Turner peuvent avoir des signes très différents.

Les résultats du traitement par l'hormone de croissance que vous avez reçue sont variables d'une personne à l'autre. On ne connaît pas actuellement les causes de ces variations.

Avant d'accepter de participer, il est important que vous compreniez le principe et les modalités de l'étude. Si vous êtes d'accord pour participer, vous devrez signer le consentement joint ainsi que toutes les pages du présent document (en bas) après l'avoir lu.

Ce document a pour but de vous expliquer comment va se dérouler cette recherche ainsi que vos droits.

Votre durée de participation est limitée dans le temps, il s'agit d'un recueil ponctuel de données : un seul questionnaire et un seul prélèvement sanguin. Environ 400 patientes et leurs mères participeront à cette étude.

.....

BUTS DE LA RECHERCHE

La plupart des femmes ont deux chromosomes X, hérités l'un du père et l'autre de la mère. Dans le syndrome de Turner, les femmes n'ont qu'un seul chromosome X intact qui peut être hérité du père ou de la mère.

L'examen habituel du caryotype ne permet pas de distinguer ces deux possibilités. Le but de l'étude est de déterminer l'origine parentale du chromosome X intact et son influence sur les signes du syndrome de Turner et sur le résultat du traitement par l'hormone de croissance.

Nous voulons donc évaluer, si, en fonction de l'origine paternelle ou maternelle du chromosome X, il y a :

- des différences de taille
- des différences de qualité de vie
- des différences en ce qui concerne l'état de santé:
les complications ORL (otites, surdité) - les maladies du cœur, des reins - le développement de la puberté

Nous espérons ainsi, en fonction des résultats obtenus, pouvoir prendre en charge de façon plus individualisée, plus adaptée, les personnes ayant un syndrome de Turner.



Etude StaTur-X

MÉTHODOLOGIE DE LA RECHERCHE

Cette recherche comprend :

Pour vous-même :

- un prélèvement sanguin
- un questionnaire à remplir

Pour votre mère :

- un prélèvement buccal (par simple grattage à l'aide d'un coton tige stérile)
ou un prélèvement sanguin

CONDITIONS DE PARTICIPATION

- Avoir un syndrome de Turner et avoir été traitée par de l'hormone de croissance.
- Être majeure.
- Que votre mère accepte elle aussi de participer à l'étude.

MODALITÉS DE LA RECHERCHE

Si vous acceptez de participer à cette étude, vous devrez :

- faire **une prise de sang**, celle-ci pourra être effectuée à l'occasion d'un bilan sanguin demandé par votre médecin, comme c'est habituel dans le syndrome de Turner. Le laboratoire se chargera de nous faire parvenir les tubes: l'un pour contrôle du caryotype (analyse des chromosomes par une technique nouvelle nommée FISH: Fluorescence In situ Hybridation), l'autre pour extraction d'ADN (matériel génétique).

- remplir **un questionnaire**. Ce questionnaire permet d'évaluer votre qualité de vie pour mieux comprendre l'influence du syndrome de Turner. De plus, différentes informations seront collectées concernant votre état de santé actuel et votre situation familiale.

Chez votre mère un prélèvement buccal ou sanguin à l'occasion d'une autre prise de sang devra également être réalisé. Pour respecter votre vie privée nous ne contacterons pas votre mère directement, mais par votre intermédiaire.

CONTRAINTES ET RISQUES PRÉVISIBLES

Le risque encouru est celui de toute prise de sang (hématome par exemple), en sachant que la prise de sang sera réalisée à l'occasion d'un bilan médical.

PARTICIPATION À L'ÉTUDE

Elle est entièrement volontaire et son refus n'aura aucune influence sur la qualité des soins médicaux ultérieurs que vous recevrez.

Vous pourrez retirer à tout moment votre consentement de participation à cette recherche et demander la destruction du tube de sang quelles que soient vos raisons et cela sans conséquence sur votre prise en charge



Etude Startur-X

BÉNÉFICES

Il s'agit d'une étude sans bénéfice direct ou indirect attendu pour vous-même et pour votre mère.
Le résultat de l'étude sur l'origine parentale de l'X ne vous sera pas communiqué pas plus qu'à votre mère.
Les ordonnances et les questionnaires vous seront fournis par courrier, sans aucun frais à votre charge.

RÉPONSES AUX QUESTIONS

Le médecin qui se charge de cette étude est à votre disposition pour répondre à toute question sur cette étude ainsi que sur vos droits :
Dr Devernay-Lefort Marie : starturx@rdebre.inserm.fr - tel : 01.40.03.19.42 - fax : 01.40.03.19.50

COMMUNICATION DES RÉSULTATS

Conformément à l'article L.1122-1 du Code de la Santé Publique, nous vous informerons, à votre demande, des résultats globaux de cette étude lorsqu'elle sera terminée ainsi que de la disponibilité de ces résultats.

CONFIDENTIALITÉ ET TRAITEMENT INFORMATIQUE

Les questionnaires seront saisis de façon anonyme, et les prélèvements sanguins seront conservés sous forme d'ADN et codés pour respecter l'anonymat; votre identité ne figurera pas dans le fichier informatique.

Le traitement statistique des données sera lui aussi totalement anonyme.

Toutes les informations sont stockées dans une base de données déclarée à la Commission Nationale Informatique et Libertés (CNIL). Toutes les informations recueillies sont protégées par le secret médical et par la loi Informatique et Libertés : La loi 78-17 du 6 janvier 1978 modifiée par la loi n°94-548 du 1er juillet 1994.*

Vous avez le droit, à tout moment d'avoir accès et de rectifier les informations qui vous concernent. Les données recueillies demeureront strictement confidentielles. En aucun cas, votre nom n'apparaîtra dans la communication ou la publication des résultats.

ANALYSES GÉNÉTIQUES

Les prélèvements sanguins seront conservés à l'hôpital Robert Debré, sous la responsabilité du Professeur Carel, chef de service d'endocrinologie pédiatrique, pour analyser l'ADN dans un laboratoire spécialisé. La recherche peut s'étendre sur plusieurs années. Ces prélèvements seront conservés au maximum 20 ans et détruits à la fin de ce délai.

Le matériel génétique obtenu servira à comprendre la diversité des signes du syndrome de Turner, en identifiant l'origine parentale du chromosome X mais aussi en étudiant d'autres facteurs génétiques pouvant influencer les signes du syndrome de Turner. Il sera utilisé par des personnes qui collaborent à la recherche, tenues au secret professionnel et ne sera pas vendu (ni cédé à titre gracieux) à d'autres institutions.

AVIS DU COMITÉ DE QUALIFICATION INSTITUTIONNEL

Conformément aux dispositions de la loi française, cette étude a reçu l'avis favorable du Comité de Qualification Institutionnel (CQI) de l'Inserm concernant ses aspects éthiques le 02/04/2007.

**Le droit d'accès prévu par la loi « Informatiques et Libertés » (art 40) du 6 janvier 1978, modifiée par la loi n°94-548 du 1er juillet 1994, s'exerce à tout moment auprès du médecin investigateur. Cette loi, relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés, garantit aux individus un droit d'accès et de rectification pour les informations les concernant.*

Etude StøTur-X

EXEMPLAIRE À ENVOYER

Composantes phénotypiques du syndrome de Turner et origine parentale du chromosome X

Nom : _____

MÈRE

Prénom : _____

Date de naissance : _____

Mère de : (fille concernée par l'étude) _____

Demeurant à : _____

Il m'a été proposé de participer à une étude génétique dans le cadre de la recherche scientifique organisée par le Professeur Carel Jean-Claude. Il m'a été précisé que je suis libre d'accepter ou de refuser cette étude.

Afin d'éclairer ma décision, j'ai bien reçu et j'ai bien compris les informations suivantes :

- Le but de cette étude est de mieux comprendre pourquoi les femmes ayant un syndrome de Turner peuvent avoir des signes très différents.
L'influence de l'origine parentale du chromosome X intact sur les signes du syndrome de Turner sera étudiée.
- Ma participation consiste en un prélèvement buccal ou une prise de sang unique qui sera réalisée à l'occasion d'un bilan médical. Le risque encouru est celui de toute prise de sang (hématome par exemple). J'accepte de faire don du prélèvement dans un but de recherche. La recherche peut s'étendre sur plusieurs années.
- Les résultats de cette étude pourront conduire à une meilleure compréhension du syndrome de Turner et à une prise en charge plus individualisée et plus adaptée.

J'ACCEPTE LIBREMENT ET VOLONTAIREMENT DE PARTICIPER A CETTE RECHERCHE
DANS LES CONDITIONS PRECISEES CI-DESSUS.

Les données recueillies demeureront strictement confidentielles. Les prélèvements buccaux ou sanguins seront conservés sous forme d'ADN et codés pour respecter l'anonymat. En aucun cas, mon nom n'apparaîtra dans la communication ou la publication des résultats. Je pourrai retirer à tout moment mon consentement de participation à cette recherche quelles que soient mes raisons sans conséquence sur ma prise en charge.

J'accepte que les données enregistrées à l'occasion de cette recherche comportant des données génétiques puissent faire l'objet d'un traitement informatisé. J'ai bien noté que le droit d'accès prévu par la loi, du 6 janvier 1978 modifiée par la loi n°94-548 du 1er juillet 1994, relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés (art. 40) s'exerce à tout moment auprès du médecin investigateur. Je pourrai exercer mon droit de rectification et d'opposition auprès de ce même médecin.

Conformément aux dispositions de la loi française, cette étude a reçu l'avis favorable du Comité de Qualification Institutionnel (CQI) de l'Inserm concernant ses aspects éthiques le 02/04/2007.

Je pourrai demander toute information complémentaire aux médecins organisateurs de l'étude.

Fait à Paris, le

Signature

de l'investigateur ou du médecin qui le représente

Signature

de la personne se prêtant à la recherche.

Etude StøTur-X

EXEMPLAIRE À GARDER

Composantes phénotypiques du syndrome de Turner et origine parentale du chromosome X

Nom : _____

MÈRE

Prénom : _____

Date de naissance : _____

Mère de : (fille concernée par l'étude) _____

Demeurant à : _____

Il m'a été proposé de participer à une étude génétique dans le cadre de la recherche scientifique organisée par le Professeur Carel Jean-Claude. Il m'a été précisé que je suis libre d'accepter ou de refuser cette étude.

Afin d'éclairer ma décision, j'ai bien reçu et j'ai bien compris les informations suivantes :

- Le but de cette étude est de mieux comprendre pourquoi les femmes ayant un syndrome de Turner peuvent avoir des signes très différents.
L'influence de l'origine parentale du chromosome X intact sur les signes du syndrome de Turner sera étudiée.
- Ma participation consiste en un prélèvement buccal ou une prise de sang unique qui sera réalisée à l'occasion d'un bilan médical. Le risque encouru est celui de toute prise de sang (hématome par exemple). J'accepte de faire don du prélèvement dans un but de recherche. La recherche peut s'étendre sur plusieurs années.
- Les résultats de cette étude pourront conduire à une meilleure compréhension du syndrome de Turner et à une prise en charge plus individualisée et plus adaptée.

J'ACCEPTE LIBREMENT ET VOLONTAIREMENT DE PARTICIPER A CETTE RECHERCHE
DANS LES CONDITIONS PRECISEES CI-DESSUS.

Les données recueillies demeureront strictement confidentielles. Les prélèvements buccaux ou sanguins seront conservés sous forme d'ADN et codés pour respecter l'anonymat. En aucun cas, mon nom n'apparaîtra dans la communication ou la publication des résultats. Je pourrai retirer à tout moment mon consentement de participation à cette recherche quelles que soient mes raisons sans conséquence sur ma prise en charge.

J'accepte que les données enregistrées à l'occasion de cette recherche comportant des données génétiques puissent faire l'objet d'un traitement informatisé. J'ai bien noté que le droit d'accès prévu par la loi, du 6 janvier 1978 modifiée par la loi n°94-548 du 1er juillet 1994, relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés (art. 40) s'exerce à tout moment auprès du médecin investigateur. Je pourrai exercer mon droit de rectification et d'opposition auprès de ce même médecin.

Conformément aux dispositions de la loi française, cette étude a reçu l'avis favorable du Comité de Qualification Institutionnel (CQI) de l'Inserm concernant ses aspects éthiques le 02/04/2007.

Je pourrai demander toute information complémentaire aux médecins organisateurs de l'étude.

Fait à Paris, le

Signature

de l'investigateur ou du médecin qui le représente

Signature

de la personne se prêtant à la recherche.



LETTRE D'INFORMATION

Etude StaTur-X

Hôpital Robert Debré | Inserm Unité 690
48 bd Sérurier - 75 019 Paris
Tel : 01 40 03 19 42 - Fax: 01 40 03 19 50
E-mail : staturx@rdebre.inserm.fr

mère de :

4 septembre 2007

Madame,

Comme vous le verrez sur les documents joints et adressés à votre fille ayant un syndrome de Turner, nous menons une étude nommée 'StaTur-X'.

L'amélioration de la prise en charge des personnes atteintes de syndrome de Turner passe par une meilleure connaissance des mécanismes à l'origine de ce syndrome.

Le fait que les signes du syndrome de Turner puissent être très différents d'une personne à une autre reste mal connu. Le but de cette étude est de mieux comprendre les causes de ces variations. Dans le syndrome de Turner, les femmes n'ont qu'un seul chromosome X intact qui peut être hérité du père ou de la mère. L'objectif de l'étude est de déterminer si **l'origine parentale du chromosome X** intact influence **différentes composantes du syndrome de Turner** tels le gain de taille dû au traitement par l'hormone de croissance et leur état de santé.

• Pour déterminer l'origine parentale du chromosome X, il sera nécessaire d'effectuer **un prélèvement buccal** (par grattage des joues à l'aide d'un coton-tige stérile) pour lequel vous trouverez plus de détails dans la lettre d'information. Votre fille effectuera une prise de sang dans le cadre d'un bilan régulier de suivi du syndrome de Turner et répondra à un questionnaire.

Vous trouverez ci joint :

- une lettre d'information sur l'étude ainsi qu'un consentement à remplir en double exemplaire.
- l'écouvillon buccal et son mode d'emploi.
- une enveloppe T à nous renvoyer avec l'écouvillon et le consentement.

Votre participation est primordiale pour progresser dans la compréhension du syndrome de Turner. Vous serez informée des résultats globaux de cette étude (mais pas de l'origine parentale de votre chromosome X intact, il s'agit en effet de recherche fondamentale dont les résultats n'ont pas prouvé actuellement leur utilité individuellement.)

Nous sommes à votre disposition pour répondre à toutes questions. Nous vous remercions par avance du temps et de l'attention que vous voudrez bien y consacrer, et vous prions de croire à l'expression de nos sentiments dévoués.

Pr Jean-Claude Carel

Dr Marie Devernay-Lefort



Etude StaTur-X

MÈRE

NOTE D'INFORMATION

des mères des personnes adultes ayant un syndrome de Turner et participant à la recherche intitulée :
"Sta Tur-X : composantes phénotypiques du syndrome de Turner et origine parentale du chromosome X."

INTRODUCTION

Comme vous le savez, votre fille a un syndrome de Turner et elle a été traitée par hormone de croissance.

Les femmes qui ont un syndrome de Turner peuvent avoir des signes variables qui sont systématiquement recherchés par les médecins lors des différents bilans.

Le but de cette étude est de mieux comprendre les causes de ces variations, en d'autres termes pourquoi les personnes ayant un syndrome de Turner peuvent avoir des signes très différents.

Les résultats du traitement par l'hormone de croissance que votre fille a reçue sont variables d'une personne à l'autre. On ne connaît pas actuellement les causes de ces variations.

Avant d'accepter de participer, il est important que vous compreniez le principe de l'étude et ses modalités. Si vous êtes d'accord pour participer, vous devrez signer le consentement joint après l'avoir lu ainsi que toutes les pages du présent document (en bas) après l'avoir lu.

Ce document a pour but de vous expliquer comment va se dérouler la recherche ainsi que vos droits.

Votre durée de participation est limitée dans le temps, il s'agit d'un recueil ponctuel de données : un seul prélèvement buccal. Environ 400 femmes ayant un syndrome de Turner et leur mère participeront à cette étude.

BUTS DE LA RECHERCHE

La plupart des femmes ont deux chromosomes X, hérités l'un du père et l'autre de la mère. Dans le syndrome de Turner, les femmes n'ont qu'un seul chromosome X intact qui peut être hérité du père ou de la mère.

L'examen habituel du caryotype ne permet pas de distinguer ces deux possibilités. Le but de l'étude est de déterminer l'origine parentale du chromosome X intact et son influence sur les signes du syndrome de Turner et sur le résultat du traitement par l'hormone de croissance.

Nous voulons donc évaluer, si, en fonction de l'origine paternelle ou maternelle du chromosome X, il y a :

- des différences de taille
- des différences de qualité de vie
- des différences en ce qui concerne l'état de santé:
les complications ORL (otites, surdité) - les maladies du cœur, des reins - le développement de la puberté

Nous espérons ainsi, en fonction des résultats obtenus, pouvoir prendre en charge de façon plus individualisée, plus adaptée, les personnes ayant un syndrome de Turner.



Etude Startur-X

MÈRE

MÉTHODOLOGIE DE LA RECHERCHE

Cette recherche comprend :

Pour vous-même :

- un prélèvement buccal (par simple grattage à l'aide d'un coton tige stérile).

Pour votre fille :

- un questionnaire
- un prélèvement sanguin

CONDITIONS DE PARTICIPATION

- Avoir une fille ayant un syndrome de Turner et ayant été traitée par hormone de croissance..
- Que votre fille soit majeure
- Que votre fille accepte elle aussi de participer à l'étude.

MODALITÉS DE LA RECHERCHE

Si vous acceptez de participer à cette étude, vous devrez :

- faire un prélèvement buccal.

Votre fille devra :

- faire un prélèvement sanguin à l'occasion d'une autre prise de sang et remplir un questionnaire.

CONTRAINTES ET RISQUES PRÉVISIBLES

Le risque encouru est minime pour le prélèvement buccal.

PARTICIPATION À L'ÉTUDE

Elle est entièrement volontaire et son refus n'aura aucune influence sur la qualité des soins médicaux ultérieurs que vous recevrez.

Vous pourrez retirer à tout moment votre consentement de participation à cette recherche et demander la destruction du tube de sang quelles que soient vos raisons et cela sans conséquence sur votre prise en charge.

RÉPONSES AUX QUESTIONS

Le médecin qui se charge de cette étude est à votre disposition pour répondre à toute question sur cette étude ainsi que sur vos droits :

Dr Devernay-Lefort Marie : starturx@rdebre.inserm.fr - tel : 01.40.03.19.42 - fax : 01.40.03.19.50



Etude StaTur-X

MÈRE

BÉNÉFICES

Il s'agit d'une étude sans bénéfice direct ou indirect attendu pour vous-même et pour votre fille.
Le résultat de l'étude sur l'origine parentale de l'X ne vous sera pas communiqué pas plus qu'à votre fille.
Les courriers vous seront fournis, sans aucun frais à votre charge.

COMMUNICATION DES RÉSULTATS

Conformément à l'article L.1122-1 du Code de la Santé Publique, nous vous informerons, à votre demande, des résultats globaux de cette étude lorsqu'elle sera terminée ainsi que de la disponibilité de ces résultats.

CONFIDENTIALITÉ ET TRAITEMENT INFORMATIQUE

Les prélèvements buccaux seront conservés sous forme d'ADN et codés pour respecter l'anonymat ; votre identité ne figurera pas dans le fichier informatique. Le traitement statistique des données sera lui aussi totalement anonyme
Toutes les informations sont stockées dans une base de données déclarée à la Commission Nationale Informatique et Libertés (CNIL.). Toutes les informations recueillies sont protégées par le secret médical et par la loi Informatique et Libertés : La loi 78-17 du 6 janvier 1978 modifiée par la loi n°94-548 du 1er juillet 1994.*
Vous avez le droit, à tout moment d'avoir accès et de rectifier les informations qui vous concernent. Les données recueillies demeureront strictement confidentielles. En aucun cas, votre nom n'apparaîtra dans la communication ou la publication des résultats.

ANALYSES GÉNÉTIQUES

Les prélèvements buccaux seront conservés à l'hôpital Robert Debré, sous la responsabilité du Professeur Carel, chef de service d'endocrinologie pédiatrique, pour analyser l'ADN dans un laboratoire spécialisé. La recherche peut s'étendre sur plusieurs années. Ces prélèvements seront conservés au maximum 20 ans et détruits à la fin de ce délai.
Le matériel génétique obtenu servira à comprendre la diversité des signes du syndrome de Turner, en identifiant l'origine parentale du chromosome X mais aussi en étudiant d'autres facteurs génétiques pouvant influencer les signes du syndrome de Turner. Il sera utilisé par des personnes qui collaborent à la recherche, tenues au secret professionnel et ne sera pas vendu (ni cédé à titre gracieux) à d'autres institutions.

AVIS DU COMITÉ DE QUALIFICATION INSTITUTIONNEL

Conformément aux dispositions de la loi française, cette étude a reçu l'avis favorable du Comité de Qualification Institutionnel (CQI) de l'Inserm concernant ses aspects éthiques le 02/04/2007.

**Le droit d'accès prévu par la loi « Informatiques et Libertés » (art 40) du 6 janvier 1978, modifiée par la loi n°94-548 du 1er juillet 1994, s'exerce à tout moment auprès du médecin investigateur. Cette loi, relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés, garantit aux individus un droit d'accès et de rectification pour les informations les concernant.*

MODE D'EMPLOI



1. ENVELOPPE TIMBRÉE “| MÈRE”

- donner l’enveloppe “T” qui lui est destinée à votre mère, si c'est impossible nous la renvoyer



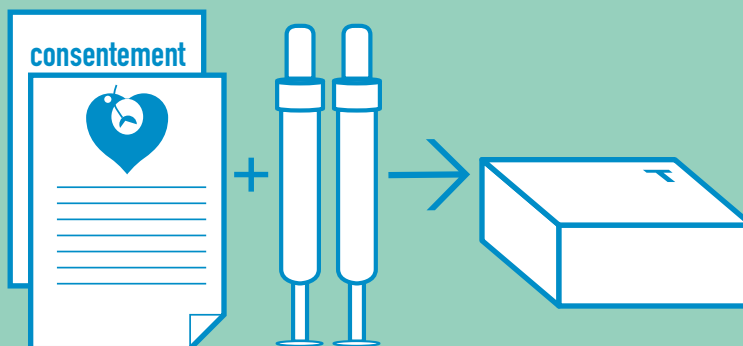
2. LETTRES D'INFORMATION

- à garder



3. QUESTIONNAIRE

- le remplir (environ 20 minutes)
- photocopies de vos derniers bilans biologiques
→ tout renvoyer dans l'enveloppe “T”



4. BILAN

apporter au laboratoire :

- l'ordonnance
- le consentement rempli (en garder un double)
- la boîte “T” avec les 2 tubes
→ renvoyés par le laboratoire dans la boîte “T”



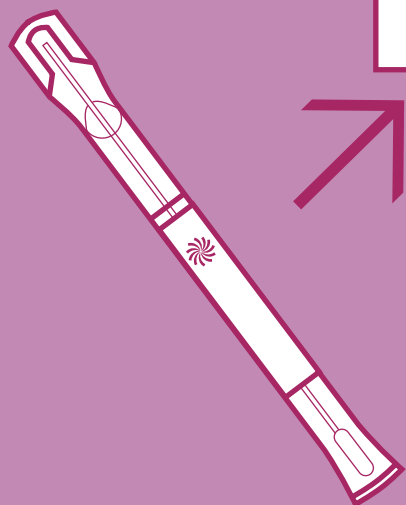
1. LETTRES D'INFORMATION

- à garder



2. CONSENTEMENTS

- les remplir, en garder un exemplaire
→ mettre un exemplaire dans l'enveloppe "T" avec l'écouvillon

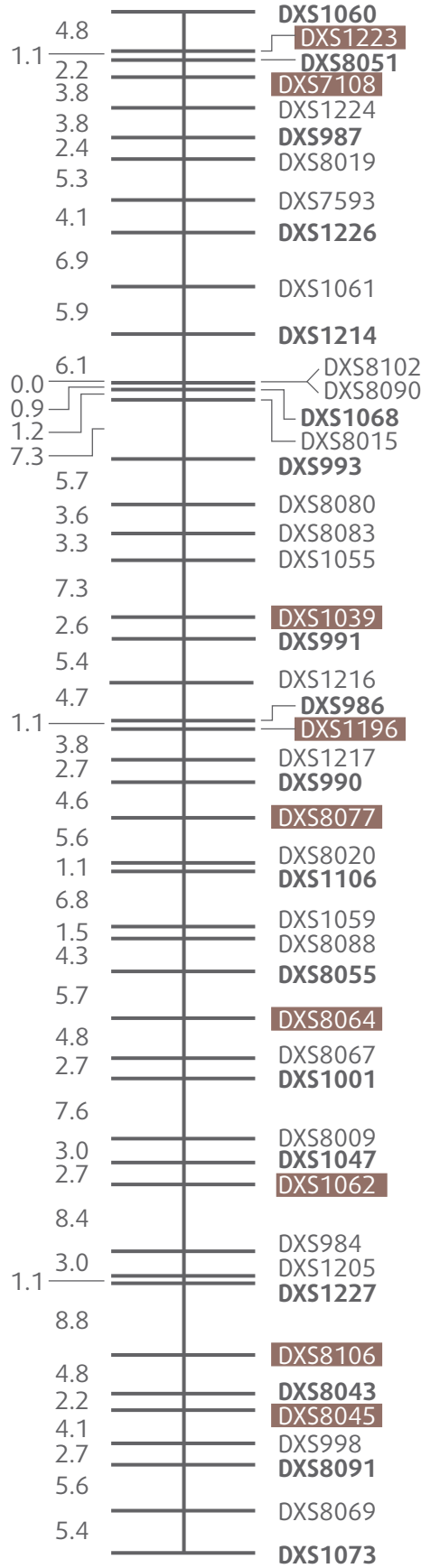


3. ECOUVILLON BUCCAL

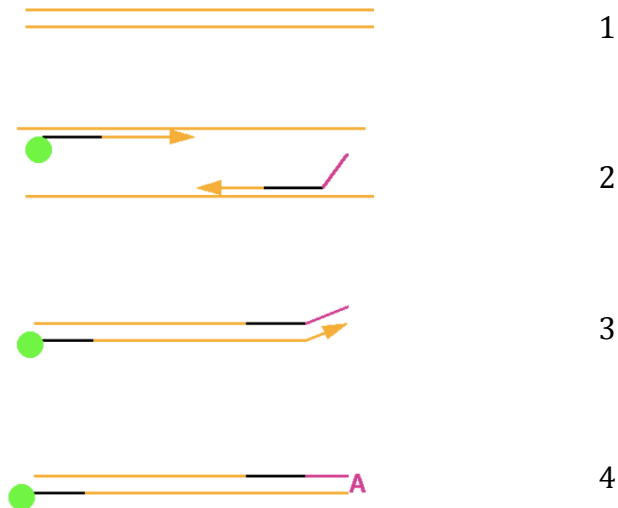
Eviter de boire du café avant de faire l'écouvillon.

- Rincez-vous la bouche à 2 reprises avec de l'eau.
 - Sortez l'écouvillon du cylindre.
 - Frottez 20 fois la surface interne de chacune des 2 joues en tournant le bout en coton de l'écouvillon.
(ne pas toucher le bout en coton de l'écouvillon)
 - Faites sécher 10 à 15 minutes l'écouvillon à l'air ambiant.
 - Remettez l'écouvillon dans le cylindre.
- renvoyez le tout dans l'enveloppe "T"

Chromosome X



Annexe 6: Principe de l'amplification des microsatellites avec un couple d'amorces marqué



Etape 1 : La dénaturation : Dans un premier temps, il faut dénaturer les différentes molécules d'ADN. Un chauffage de quelques secondes à 95°C (température de dénaturation de la molécule double brin d'ADN) provoque la rupture des liaisons hydrogène et donc la séparation des deux chaînes complémentaires.

Etape 2 : L'hybridation : La température est rapidement abaissée à 50-55°C environ (selon l'amorce) pendant 30 secondes. Les amorces (Une des 2 portent le fluorochrome) s'hybrident chacune sur leur brin d'ADN cible grâce à l'appariement des bases complémentaires.

Etape 3 : L'élongation : On augmente la température à 72°C pendant le temps nécessaire à la Taq polymérase pour ajouter des nucléotides aux amorces hybridées, dans le sens 5' vers 3'. Chaque base ajoutée est complémentaire de la base correspondante du brin matrice.

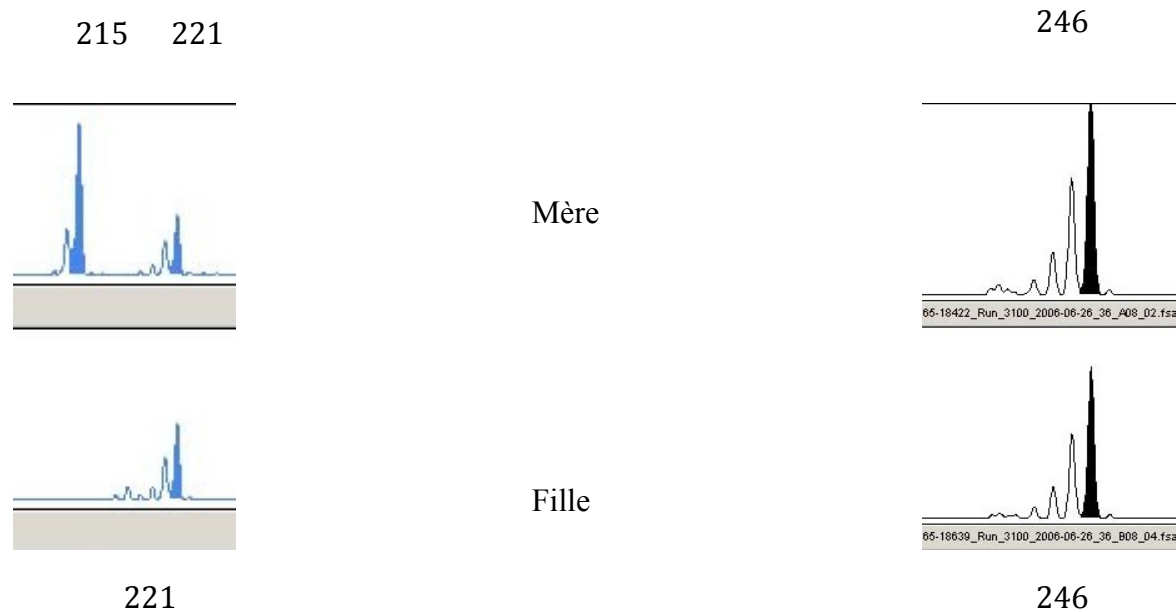
Etape 4 : Les cycles se succèdent rapidement. Les premiers fragments recherchés sont présents dans le milieu. Ainsi chaque cycle permet de synthétiser autant de brins complémentaires que de brins cibles présents dans l'échantillon.

Annexe 7: Pour chaque microsatellite amplifié, nous avons la taille des fragments (en paires de bases) dans la colonne de gauche et la fréquence de chaque fragment dans la colonne de droite. Ces fréquences ont été calculées chez les mères.

PR1		PR2		PR3	
141	0,003	184	0,045	213	0,008
143	0,003	186	0,090	215	0,098
145	0,003				
147	0,006	188	0,571	217	0,072
149	0,263				
		190	0,102	219	0,080
151	0,230				
		192	0,102	221	0,596
153	0,045				
		194	0,041	223	0,112
155	0,095				
		196	0,045	225	0,0346
157	0,039				
		200	0,004		
159	0,303				
161	0,006				
163	0,003				
PR4		PR5		PR6	
239	0,039	211	0,008	98	0,035
241		213	0,044	100	0,106
243		215	0,302	102	0,268
245	0,007	217	0,302	104	0,275
247	0,003	219	0,062	106	0,021
249	0,033	221	0,107	108	0,099
251	0,293	223	0,029	110	0,183
253	0,319	225	0,060	112	0,007
255	0,072	227	0,023	198	0,007
257	0,201	229	0,036		
259	0,033	231	0,021		
		233	0,005		

	PR7		PR8		PR9
179	0,003	212	0,011	244	0,002
181	0,044	214	0,168	246	0,005
		216	0,616	248	0,315
183	0,008	218	0,087	250	0,270
185	0,104	220	0,1	252	0,395
187	0,067	222	0,003	254	0,007
189	0,549	224	0,008	258	0,005
191	0,137	226	0,003		
193	0,023	228	0,005		
195	0,013				
197	0,049				
199	0,003				

Annexe 8: Exemple de tracé obtenu et comparaison de la taille des fragments de deux microsatellites entre une mère et sa fille ayant un syndrome de Turner



La mère (en haut) est hétérozygote pour le microsatellite correspondant à l'amorce 3, et la fille a le même fragment que sa mère

La mère est homozygote pour le microsatellite correspondant à l'amorce 9 et la fille a le même fragment que sa mère.

La poursuite des analyses permettra de conclure quant à l'origine parentale avec un calcul de probabilité de se tromper faible.

Si tous les microsatellites étudiés sont identiques, l'origine sera maternelle, si ils sont différents, l'origine sera paternelle (et inversement pour les 4 pères ayant participé à l'étude).