

# Ataxie Tardive

(Late Onset Cerebellar Ataxia):  
caractérisation clinique &  
généétique

Bernard Brais M.D., M.Phil., Ph.D.

Neurogénétiicien consultant, clinique neuromusculaire Carrefour de Santé de Jonquière

Professeur agrégé, Département de Médecine

Laboratoire de neurogénéétique de la motricité, Centre d'étude des maladies du cerveau

Centre de recherche du CHUM, Hôpital Notre-Dame-CHUM, Montréal, Québec, Canada

[Bernard.Brais@umontreal.ca](mailto:Bernard.Brais@umontreal.ca)

# PROJETS DE RECHERCHE DU LABORATOIRE DE NEUROGÉNÉTIQUE DE LA MOTRICITÉ

**Dystrophie oculopharyngée  
(DMOP), Panquébécois**

1 mutation: 97%



**Myotonie congénitale,  
SLSJ**

5 mutations, mutation 1: > 60%

**Ataxie AOA2, Gaspésie**

5 mutations, mutation 1:  
85%



IRSC CIHR

**Ataxie récessive spastique  
avec leucoencéphalopathie  
(ARSAL), Portneuf**

3 mutations\*, mutation 1: 97%



IRSC CIHR

**Névrite sensitive (NHSaII),  
Lanaudière**

2 mutations, mutation 1: 75%

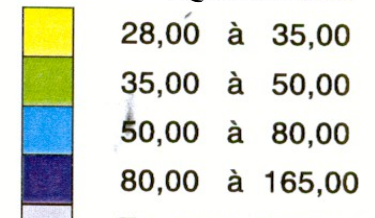


Fonds de la recherche  
en santé  
Québec

**Polynévrite CMT4C,  
Gaspésie**

3 mutations, mutation 1: 62.5%

Fonds de la recherche  
en santé  
Québec



**Dystrophie des ceintures avec  
atrophie des quadriceps,  
Outaouais-Montréal**

3 mutations\*, mutation 1: 81,3%



**Dystrophie musculaire  
congénitale avec hyperlaxité  
ligamentaire, Montréal**

5 mutations\*, mutation 1: 45,5%



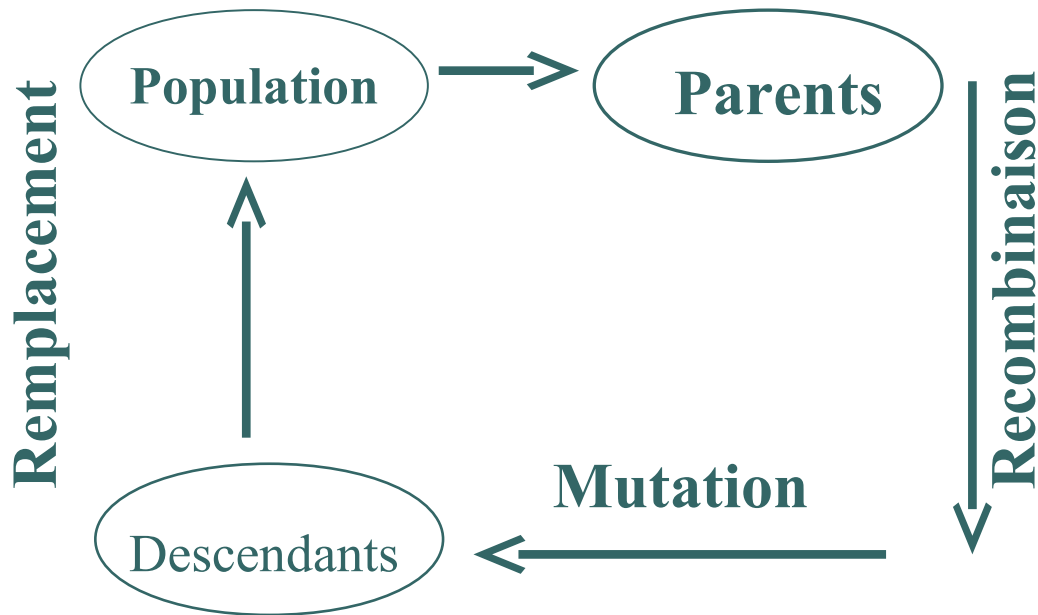
s d'analyse



# Hypothèses de Recherche

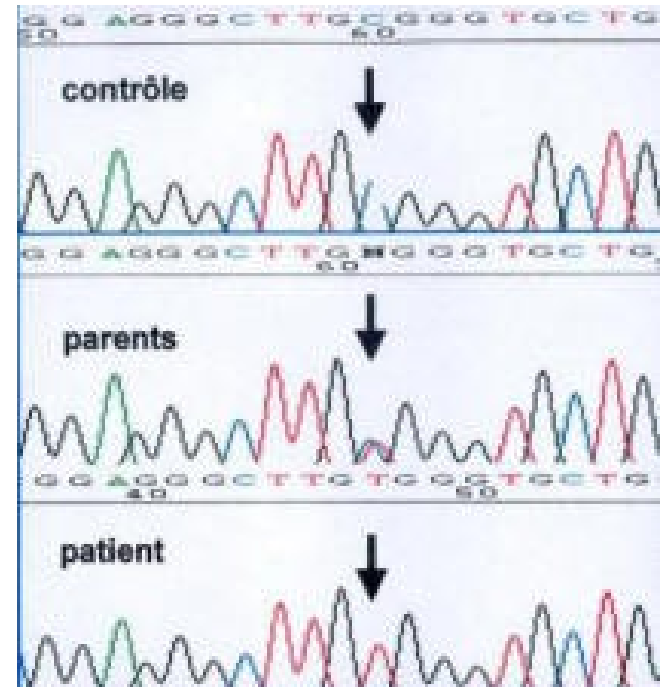
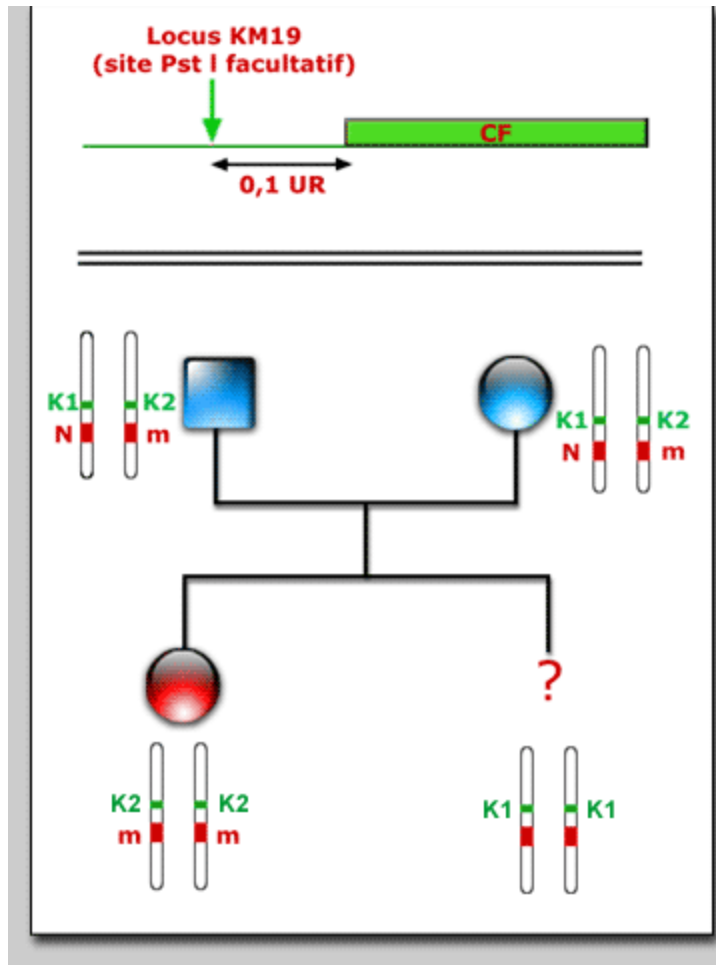
- Une mutation fondatrice ait été implantée au sein de la population du Québec
- Les pedigrees suggèrent une transmission autosomique récessive, les porteurs homozygotes de la mutation, ou hétérozygotes pour deux mutations, développent LOCA
- La variabilité phénotypique (intra- et inter-familiale) de la maladie suggère une expansion de triplets ou une délétion/insertion complexes (ex. GGC)

# Mutation Fondatrice



- Une mutation germinale origine d'un individu, si la mutation est non létale, cette dernière est passée à la génération suivante selon les lois mendéliennes
- Un ancêtre introduit la mutation au sein de sa population

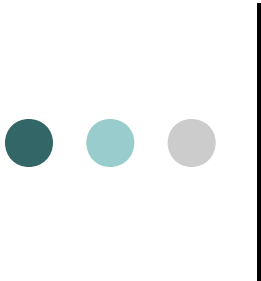
# Exemple de maladie récessive et de mutation





## Objectifs (1<sup>re</sup> étape)

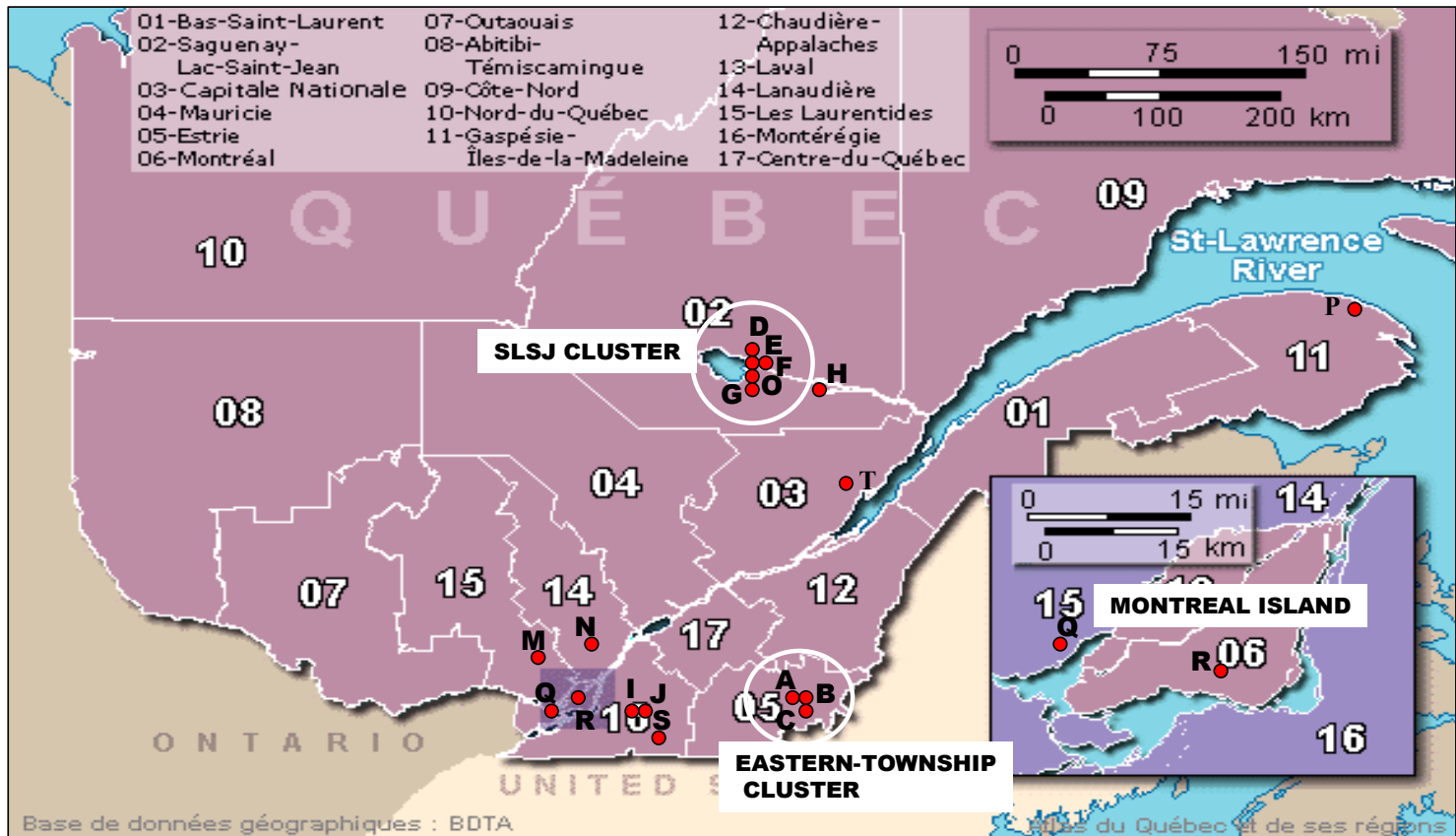
- Terminer le recrutement des patients
- Description clinique de la maladie
- Exclusion des formes d'ataxies connues



# Matériel et méthodes: Recrutement des patients

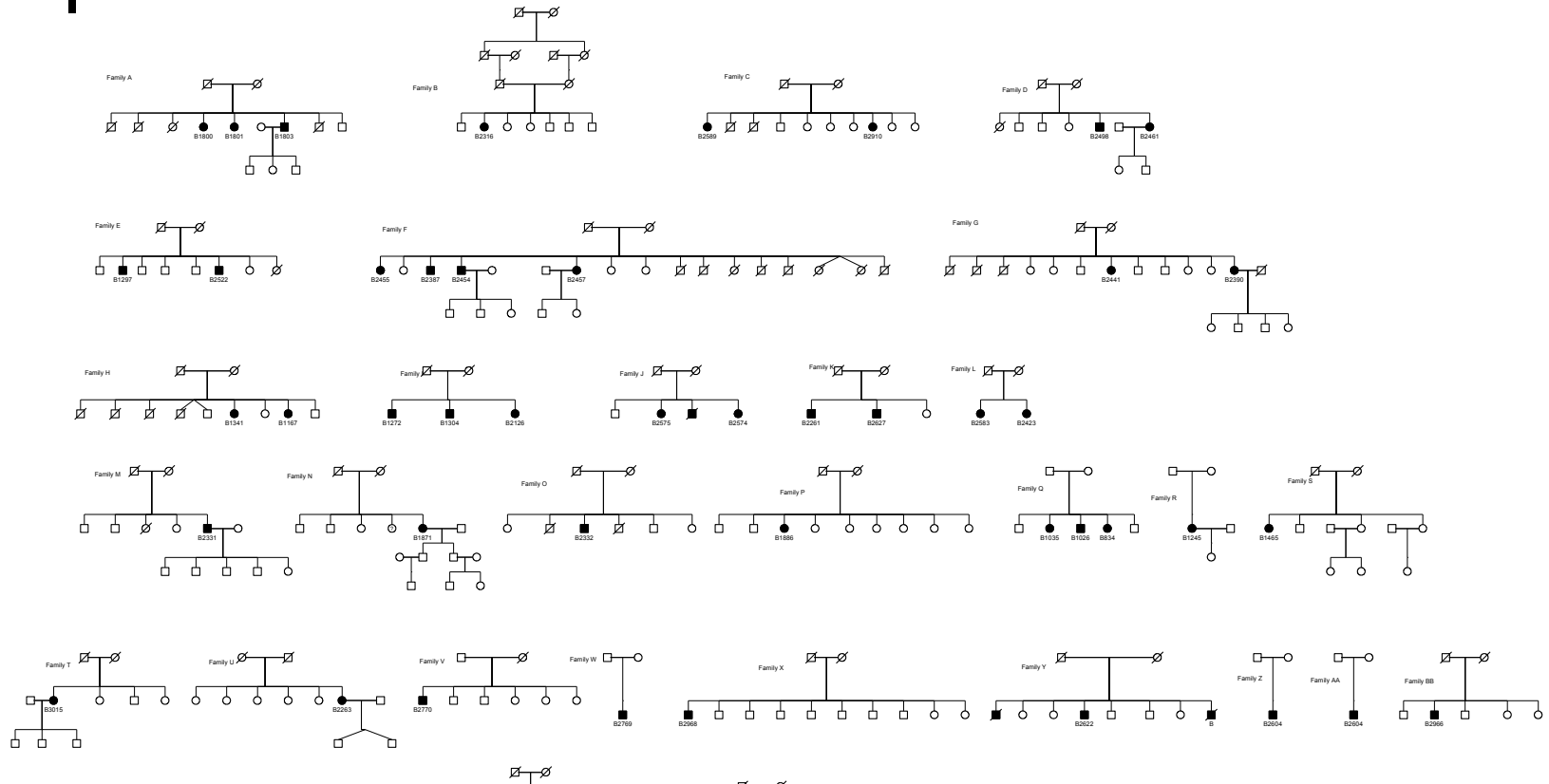
- En 2005, nous avons rencontré une famille de personnes ataxiques (famille A). Le fait que les deux parents étaient originaires du même village, sans aucun lien de consanguinité connu, suggérait un mode de transmission héréditaire récessif.
- Par le fait même, nous avons observé un certain nombre de cas similaires provenant de quatre familles du Saguenay-Lac-Saint-Jean (SLSJ). Les effets fondateurs 'génétiques' sont bien connus dans la région du SLSJ (**Laberge et al. 2005**). Nous avons 21 patients LOCA provenant de 17 familles et 4 de 2 familles avec un phénotype de MSA-C. Tous les patients recrutés et leur familles ont signé des consentements pour participer à l'étude.

# Distribution géographique de l'origine des patients LOCA





# Arbres généalogiques des patients LOCA



- 35 familles canadiennes-françaises
- L'ADN a été obtenu pour plus de 183 individus

□ □ ●  
B2833

# Résultats: Description clinique des patients LOCA

Family	Age of onset	Age at examination	Use of cane (age)	Use of wheelchair (age)	Nystagmus	Dysarthria	Spasticity	Reflexes	Gait ataxia	MRI Cerebellar atrophy	MRI Cerebral atrophy	Ataxia fluctuations
A	63	79	75	no	yes	yes	hypo	increased	yes	no	yes	
A	65	73	no	no	yes	yes	hypo	normal	yes	yes	yes	
A	64	78	no	no	yes	yes	normal	normal	yes	no	no	
B	63	66	no	no	no	no	hypo	normal	yes	yes	no	yes
C	60	68	yes	67	yes	yes	normal	normal	yes	yes	no	
D	58	60			no	no	hypo	normal	yes	yes	no	yes
D	64	68			no	yes	hypo	normal	yes			
E	56	59	61	63	yes	yes	yes	normal	yes	yes	yes	
F	55	72	68	no	no	yes	normal	normal	yes	yes	yes	yes
G	70	76	74		yes	no	hypo	diminished	yes			yes
H	58	61	no		no	no	hypo	increased	yes	yes	no	
I	60	69	no	no	yes	yes	yes	increased	yes	yes	yes	
J	64	69	68		yes	yes	hypo	increased	yes	yes	no	yes
M	70	75	no	no	no	yes			yes			
N	66	67	66		yes	yes	normal	normal	yes	yes	yes	
O	57	65		63	yes	yes	normal	normal	yes	yes	no	yes
P	54	58	yes		yes	yes	yes	increased	yes	yes	no	yes
Q	70	81	yes	74	no	yes	hypo	diminished	yes			
R	61	71	no	yes	no	yes	hypo	normal	yes			
S	55	61	yes	yes	no	yes	normal	increased	yes	yes	yes	
T	54	69	non	no	no	yes	normal	diminished	yes	yes	yes	
	61,29	68,81	48%	29%	52%	81%			100%	88%	50%	33%



# Caractérisation clinique des patients LOCA

- Nous observons deux ‘clusters’ **généalogiques** dans notre cohorte; du **Saguenay** et des **Cantons de l’Est**.
- Autant les hommes que les femmes sont atteints . Les arbres familiaux suggèrent un mode de transmission héréditaire autosomique récessif.
- Les principales caractéristiques cliniques sont la présence de :
  - **Ataxie (100%)**
  - **Dysarthrie (81%)**
  - **Atrophie cérébelleuse** dans 88% des cas, et d’**atrophie cérébrale** dans 50% des cas.
  - **Particularité oculaire:** 52% ont un nystagmus
  - 23% n’ont pas besoin d’aide pour la marche, 48% utilisent une **cane ou une déambulateur**, et 29% sont en **chaise roulante** (âge moyen de 65 ans)



## Exclusion des formes d'ataxies connues

- Analyse des mutations pour SCA2, SCA6 et l'ataxie de Friedreich.
- Analyse du syndrome Fragile-X.
- Génotype and haplotype pour exclure les deux nouveaux locus et les mutations connues: (ataxie de Portneuf) ARSAL (**Thiffault et al. 2005**) et ARCA1 (ataxie de Beauce) (**Gros-Louis et al. 2007**).



## Résultats: Exclusion des formes d'ataxies connues

**Toutes les familles sont négatives pour SCA2, SCA6, l'ataxie de Friedreich, Fragile-X, ARSAL et ARCA1.**

**Aucune mutation ou homozygotie ou partage d'allèles n'a été observé dans ces 6 régions.**

**L'analyse des haplotypes pour ARSAL et ARCA1 a exclu la possibilité qu'une mutation fondatrice dans une des régions ou gènes candidats cause LOCA au Québec.**



## Objectifs (2<sup>re</sup> étape)

- Effectuer criblage entier du génome avec marqueurs microsatellites (**DeCODE-GWS**) avec les familles ayant le plus de puissance
- Effectuer une cartographie fine du génome sur les loci intéressants afin de réduire l'intervalle candidat
- Analyser par séquençage les gènes candidats dans cet intervalle



# Éligibilité des familles à une analyse de liaison

- Un total de 35 familles comprenant au moins un cas diagnostiqué de LOCA ont été recrutées pour les fins de l'étude. Le recrutement de ces familles a permis de prélever un total de 183 individus.
- Parce que certaines familles comportaient un nombre beaucoup moins important d'individus atteints, une analyse de liaison s'avérait très peu utile pour certains petits pedigrees.



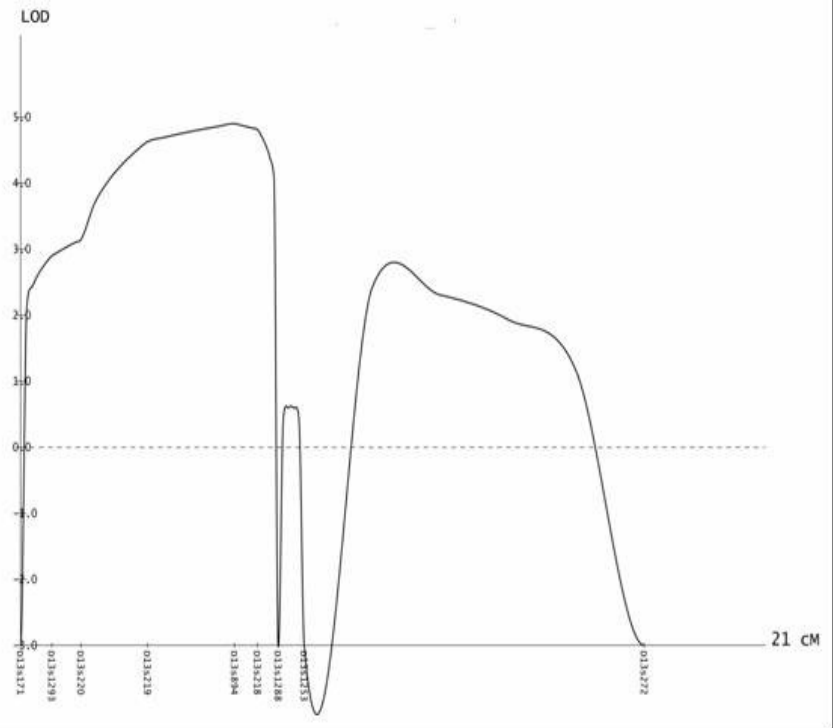
# Études de liaison génétique par Microsatellites

- Des marqueurs microsatellites à répétitions « CA » ont été testés chez chacun des pedigrees comportant un nombre suffisant d'individus sains et de patients atteints. Des marqueurs tirés de la carte de microsatellites de DeCODE ont été testés sur les régions chromosomiques (total de 388 marqueurs).
- Les données préliminaires de liaison exprimées en valeurs « lod » ont par la suite été validées par le phasage des allèles identifiés chez chaque individu. C'est par l'attribution de l'origine paternelle et maternelle des deux allèles observés chez chaque marqueur polymorphique que se confirmait la liaison potentielle de la maladie à une région de susceptibilité normalement exprimée par des valeurs lod.



# Résultats : Études de liaison génétique

- o La région candidate de LOCA est définie par le plus haut « LOD score ». Les génotypes et haplotypes suggèrent que la majorité des familles semblent lier ce locus du chr.13 (LOD score of 5.18)
- o Les haplotypes définissent une région de 4cM.

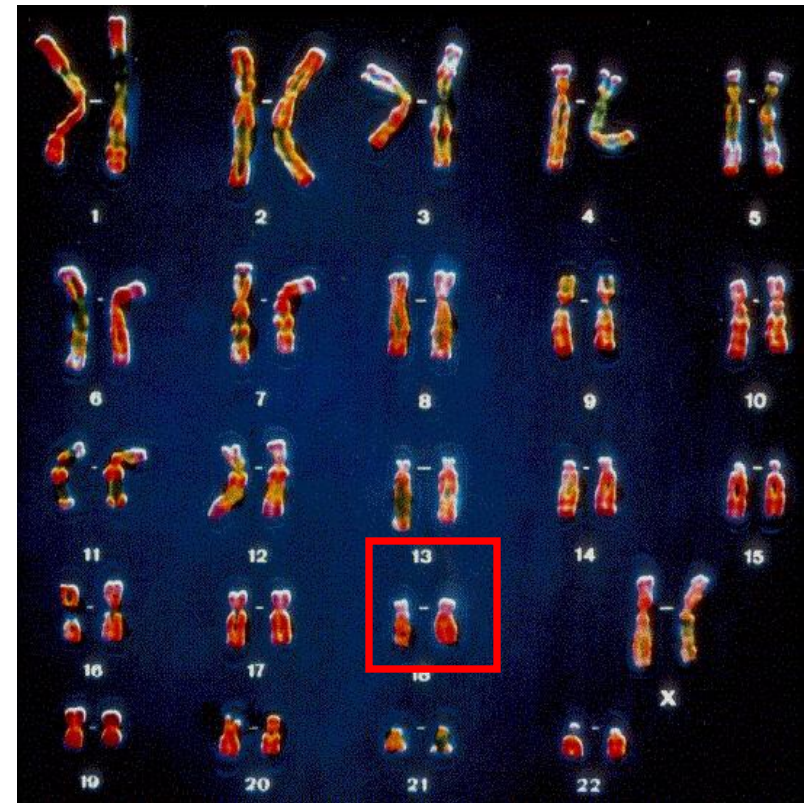
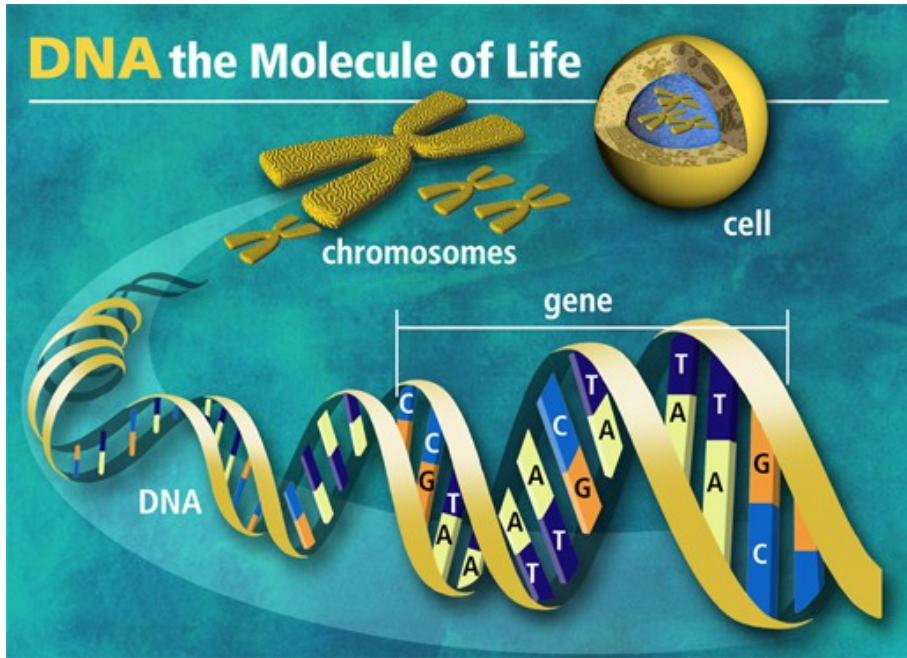


**Figure** : Multipoint LOD scores for Chromosome 13q. Markers defining a 9.9 cM candidate interval (maximum LOD score of 5.18)

# Résultats : Haplotypes des chromosomes atteints des 16 patients de familles LOCA et d'une famille MSA sur le chromosome 13q

	Marker deCODE UCSC (Mbp)	D13S171 31.07 32.15	D13S1293 32.16 33.64	D13S220 33.18 34.07	D13S219 35.5 36.056	D13S894 38.54 37.64	D13S218 39.34 37.93	D13S1288 40.06 38.42	D13S1253 40.97 39.04	D13S272 52.84 49.6	
Family	Individual ID	Regional Clustert									
A	B1800	ET	3-6	4-6	3-5	3	3	2	4-8	4-6	1-2
A			3-6	4-6	3-5	3	3	2	4-8	4-6	1-2
A	B1801	ET	3-6	4-6	3-5	3	3	2	4-8	4-6	1-2
A			3-6	4-6	3-5	3	3	2	4-8	4-6	1-2
A	B1803	ET	3-6	4-6	3-5	3	3	2	4-8	4-6	1-2
A			3-6	4-6	3-5	3	3	2	4-8	4-6	1-2
B	B2316	ET	1	4	5	7*	3	2	10	5	1
B			1	3	1	7	4	1m	7	7	1
G	B2390	SLSJ	6	2	4	2	6**	2	2	4	1
G			6	4	3	7	6**	2	4	6	2
D	B2443	SLSJ	3	5	3	3	3	2	4	8	1
D			1	3	5	7	2	1	4	3	1
D	2498	SLSJ	3	5	3	3	3	2	4	7	1
D			1	3	5	7	2	1	4	3	1
D	2461		3	5	3	3	3	2	4	7	1
D			1	3	5	7	2	1	4	3	1
E	B2522	SLSJ	1	6	5	7	2	2*	7	2	6
E			3	5	1	3	3	1*	2	6	1
E	B1297	SLSJ	1	6	5	7	2	2*	7	2	1
E			3	5	1	3	3	1*	2	6	1
F	B2454	SLSJ	6	2	4	3-7	6**	2	4	3	1
F			6	3	3	3-7	3	2	4	6	1
F	B2455	SLSJ	6	2	4	3-7	6**	2	4	3	1
F			6	3	3	3-7	3	2	4	6	1
F	B2387	SLSJ	1	2	4	3-7	6**	2	2	6	4
F			6	3	3	3-7	3	2	4	6	1
H	B1167	SLSJ	3	1	1	7	2	1	4	7	1
H			7	4	3	7	4	2m	7	7	1
I	B1304		3	3	1	7	3	2	2	4	1
I			1	1	1	7	2	1	4	4	3
J	B2574		3	3	0	0	3	2	10	4	1
J			3	3	0	0	2	1	10	4	4
Unphased											
C	B2589	ET	3-1	0	0	3-4	0	4-1	4-10	4-8	1-3
C			3-1	0	0	3-4	0	4-1	4-10	4-8	1-3
M	B2331		1-6	3-9	3-4	3-7	3	2-4	4-2	9-4	1-4
M			1-6	3-9	3-4	3-7	3	2-4	4-2	9-4	1-4
N	B1871		1-6	3-4	3-5	3-7	3	1	4	4-8	1-3
N			1-6	3-4	3-5	3-7	3	1	4	4-8	1-3
P	B1886		1-4	4-9	4-6	3-7	3	2	5	4-7	4-5
P			1-4	4-9	4-6	3-7	3	2	5	4-7	4-5
O	B2332	SLSJ	3-1	5-1	0	7	3	2-4	4-10	4-6	1
O			3-1	5-1	0	7	3	2-4	4-10	4-6	1
R	B1245		3	3-6	1-6	3-4	3	1-5	0	4-6	4
R			3	3-6	1-6	3-4	3	1-5	0	4-6	4
S	B1465		1	3-2	3-1	7	3-6	2-4	2-7	2-4	1
S			1	3-2	3-1	7	3-6	2-4	2-7	2-4	1
MSA-C											
K	B2261		6	5-3	6-3	4-7	3-2	2-1	4-7	6-5	1
K			6	5-3	6-3	4-7	3-2	2-1	4-7	6-5	1

# Locus de la maladie LOCA



chr13 (q13.2-q13.3)

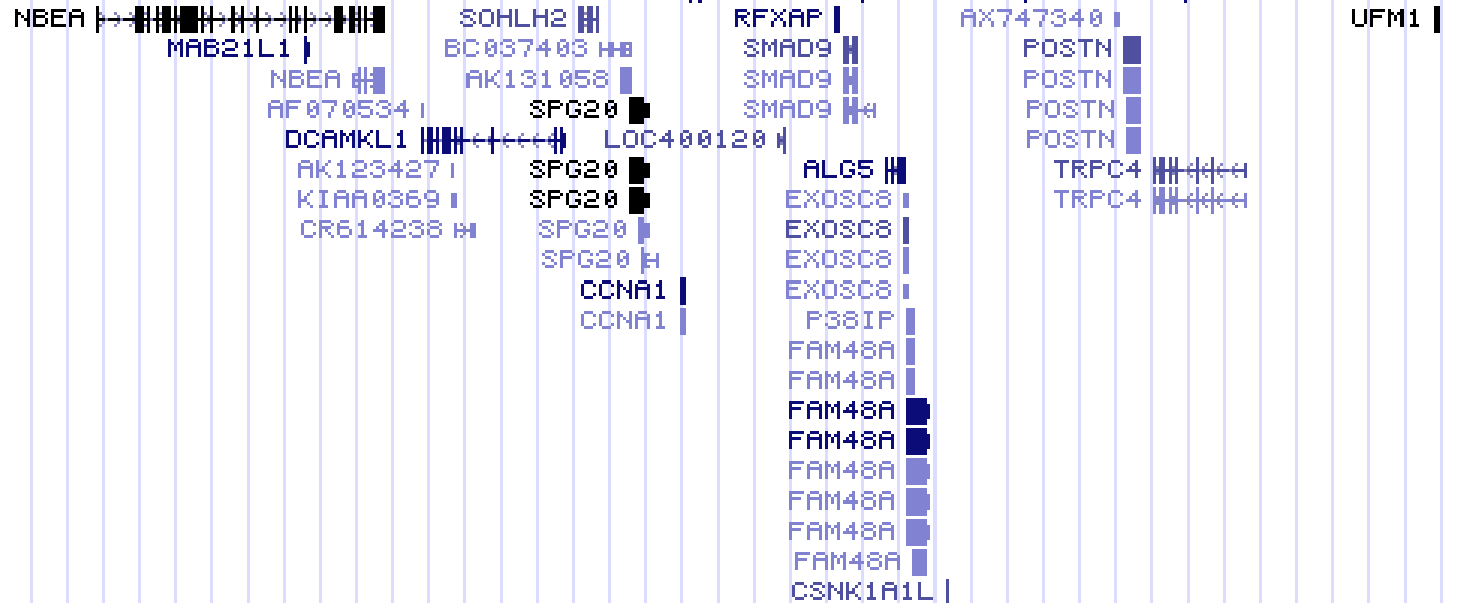
1312

31.1

34

chr13:

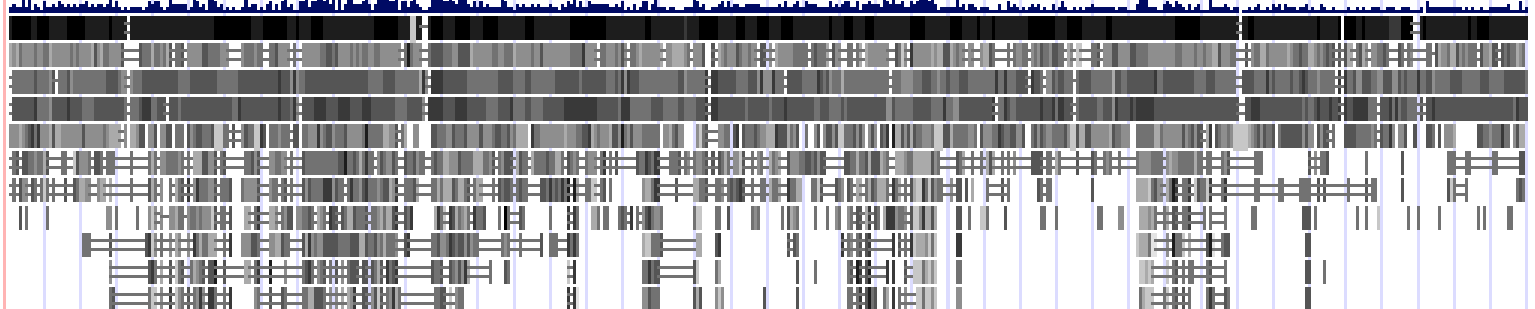
UCSC Gene Predictions Based on RefSeq, UniProt, GenBank, and Comparative Genomics



Vertebrate Multiz Alignment & PhastCons Conservation (28 Species)

Mammal Cons

Rhesus  
 Mouse  
 Dog  
 Horse  
 Armadillo  
 Opossum  
 Platypus  
 Lizard  
 Chicken  
 X\_tropicalis  
 Stickleback





# Utilisation des micropuce d'ADN (Illumina HAP300)

**Cette technologie de pointe nous permet de trouver et confirmer le locus d'intérêt et d'effectuer une cartographie fine du génome afin de réduire l'intervalle candidat (plus de 300 000 marqueurs SNPs). Les données préliminaires semblent permettre de réduire notre intervalle de 4cM à 0,5cM: donc moins de gènes candidats à analyser !**



# Conclusions

- LOCA est une nouvelle forme d'ataxie tardive de la population québécoise avec effet fondateur (Saguenay-Cantons de l'Est).
- À l'aide des divers Centres, cliniques et collaborateurs, nous avons établi la plus grande cohorte jamais décrite au monde de cas d'ataxies tardives héréditaires.
- Le phénotype et la sévérité sont très variables.
- Cartographie fine de la région du chromosome 13q se poursuit à l'aide micropuces d'ADN (marqueur SNPs).
- L'analyse des haplotypes et du partage d'allèles suggèrent que deux mutations communes pourrait expliquer plus de 77% des chromosomes porteurs au Québec.
- Analyse par séquençage direct de gènes candidats : il y a plus de 25 gènes dans l'intervalle de 4cM.
- Aucune région d'expansions ou répressions n'a été observée dans l'intervalle candidat (type CAG, CAA, GAA...).
- L'identification du premier locus de LOCA suggère que plusieurs autres maladies neurodégénératives tardives pourrait avoir un mode de transmission autosomique récessif. De plus, l'identification de cas québécois de LOCA qui progressent vers une atrophie multi-systèmes (MSA) suggère que certains cas de MSA pourraient être causés par le gène/locus de LOCA (chr13q).



# Perspectives

- **Court terme**

- Terminer la cartographie fine de l'intervalle candidat
- Étudier par séquençage les gènes candidats dans cet intervalle afin d'identifier les mutations responsables de la maladie dans notre cohorte

- **Long terme**

- Tester une cohorte de MSA avec le locus et les mutations identifiés
- Effectuer la caractérisation de la protéine d'intérêt
- Développer un model animal de la maladie : souris transgénique, mouche...

# Questions & Remerciements

- Nous remercions les familles participantes à l'étude ainsi que les organismes subventionnaires:

